

**SÍNTESIS Y DETERMINACIÓN ESTRUCTURAL POR DIFRACCIÓN
DE RAYOS X DE MONOCRISTAL DE FENILNITROBENZAMIDAS,
ESTUDIO SUPRAMOLECULAR, DE FRECUENCIAS VIBRACIONALES
Y ACOUPLE MOLECULAR CON PROTEÍNAS DE *LEISHMANIA***

DIANA VANESSA MELO GARCÍA

**UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS
PROGRAMA ACADÉMICO DE QUÍMICA
SANTIAGO DE CALI**

2015

**SÍNTESIS Y DETERMINACIÓN ESTRUCTURAL POR DIFRACCIÓN DE
RAYOS X DE MONOCRISTAL DE FENILNITROBENZAMIDAS,
ESTUDIO SUPRAMOLECULAR, DE FRECUENCIAS VIBRACIONALES
Y DE ACOUPLE MOLECULAR CON PROTEÍNAS DE *LEISHMANIA***

DIANA VANESSA MELO GARCÍA

Trabajo de grado de trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar
al título de Químico

Director Rodolfo Moreno Fuquen. Ph. D.



**UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS
PROGRAMA ACADÉMICO DE QUÍMICA
SANTIAGO DE CALI**

2015



UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE CIENCIAS
ACTA DE EVALUACIÓN DE TRABAJO DE GRADO
PROGRAMA ACADÉMICO DE QUÍMICA.

JURADO CONFORMADO POR:

1. DR. MANUÉL NOÉ CHAUR
2. DR. RODOLFO MORENO

El día 1 de Septiembre de 2015 a las 8:00 A.M se llevó a cabo la ENTREGA DE LA EVALUACIÓN () SUSTENTACIÓN (X) del INFORME FINAL DEL TRABAJO DE GRADO titulado **"SÍNTESIS Y DETERMINACIÓN ESTRUCTURAL POR DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE MONOCRISTAL DE FENILNITROBENZAMIDAS, ESTUDIO SUPRAMOLECULAR, DE FRECUENCIAS VIBRACIONALES Y ACOPLAMIENTO MOLECULAR CON PROTEÍNAS DE LEISHMANIA"** Presentado por la estudiante DIANA VANESSA MELO, código 200745662 bajo la dirección del Dr. RODOLFO MORENO.

Candidato a Grado para la ceremonia de:

RESULTADO DE LA EVALUACIÓN:

- (X) APROBADO.
(X) RECOMENDACIÓN DE DISTINCIÓN DE MERITORIO.
() RECOMENDACIÓN DE DISTINCIÓN DE LAUREADO.
() REPROBADO.

Se recomienda modificaciones: SI () NO (X).

OBSERVACIONES

RODOLFO MORENO
DIRECTOR DEL TRABAJO

MANUEL NOÉ CHAUR
JURADO

ALEJANDRO ORTÍZ
MIEMBRO COMITÉ DE PROGRAMA

ABSTRACT

We synthesized three phenylbenzamide: acid 4- (3-nitrobenzamide) benzoic (4CPB3N) prepared by esters path and N-(4-nitrophenyl)-nitrobenzamide (4NPB3N) and N-(4-methoxy)-3-nitrobenzamide (4MPB3N) both prepared by acid path. Then we characterized these systems by X-Ray diffraction, which allow us to observe the amidic fragment's planar behavior; were the dihedral angle between the amidic fragment and benzene rings is bigger in 4CPB3N and 4MPB3N compared to 4NPB3N, these behaviors broke the planarity of 4CPB3N and 4MPB3N crystal packing. Furthermore we employed Hirshfeld surfaces and their fingerprints analysis and found the presence of O...H, H...H and C...H as principal interactions for all systems, while only observed π - π stacked interactions for 4NPB3N system. We also implemented vibrational frequencies calculations by DFT methods for all systems, and observed higher values in N-H and C=O vibrational bands compared to their experimental values. Finally we performed molecular docking analysis with leishmania proteic structures as a base, and obtain affinity energy values of -10 KJ/mol for the three systems.

Keywords: phenylbenzamides, X-Ray diffraction, Hirshfeld surfaces, π - π stacked interactions, molecular Docking, Leishmania.

RESUMEN

Se sintetizaron tres fenilbenzamidias cristalinas: ácido 4-(3-nitrobenzamida) benzoico (4CPB3N), *N*-(4-nitrofenil)-3nitrobenzamida (4NPB3N) y *N*-(4-metoxi)-3-nitrobenzamida (4MPB3N) derivadas del ácido p-aminobenzoico, la p-anisidina y la 4-nitroanilina respectivamente, la primera vía ésteres (a partir de 3-nitrobenzoato de picrilo) y las otras vía ácidos (ácido 3-nitrobenzoico). Para el primer y tercer sistema el solvente de re cristalización fue el acetonitrilo y para el segundo, el etanol.

El sistema 4CPB3N cristalizó en el sistema triclinico y 4MPB3N y 4NPB3N en el monoclinico, los grupos espaciales fueron centrosimétricos para los tres casos, $P_{\bar{1}}$, $P_{21/n}$ y $P_{2/c}$, respectivamente. El fragmento central amídico tuvo un comportamiento planar definido y no presento diferencias significativas en las distancias de enlace o ángulos de torsión, sin embargo el ángulo dihedral entre este y los planos de los anillos bencénicos fue similar para 4CPB3N y 4MPB3N y mucho menor para 4NPB3N debido a la presencia del enlace de hidrógeno N1-H1...O1 en los dos primeros, donde a su vez el empaquetamiento cristalino rompe su planaridad.

En los tres sistemas las interacciones predominantes son las O...H, H...H y C...H las cuales fueron analizadas utilizando las superficies de Hirshfeld y sus correspondientes huellas dactilares. El sistema 4NPB3N presento además interacciones π - π interplanares entre los anillos bencénicos, las cuales fueron identificadas en el análisis de las superficies, debido a la presencia de interacciones C...C significativas en su huella dactilar.

Se compararon las frecuencias vibracionales experimentales y teóricas (calculadas por DFT) observándose un aumento en las vibraciones de tensión teóricas de los enlaces N-H del grupo amino y C=O del grupo carbonilo, debido a la presencia del enlace de hidrógeno N1-H1...O1 en 4CPB3N y 4MPB3N y las interacciones C4-H4...O1 y N1-H1...O5 en 4NPB3N.

Finalmente se realizaron análisis de *docking* molecular contra una base de estructuras proteicas de *Leishmania*, obteniéndose como mejor valor de energía de afinidad -10 KJ/mol para los tres sistemas

Palabras clave: Fenilnitrobenzamidas, DRX de monocristal, Superficies de Hirshfeld, interacciones π - π , *Docking* con proteínas de *Leishmania*.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1. Métodos de obtención.....	2
2.2. Aplicaciones.....	2
3. MARCO TEÓRICO.....	3
3.1. Cristales	3
3.2. Simetría.....	5
3.3. Índices de Miller	5
3.4. Difracción de Rayos X.....	5
3.5. Superficies de Hirshfeld.....	7
3.6. Teoría del Funcional de Densidad	7
3.7. <i>Docking</i> molecular	8
3.8. Leishmaniasis.....	9
4. OBJETIVOS	11
4.1. General.....	11
4.2. Específicos	11
5. SECCIÓN EXPERIMENTAL	12
Reactivos y solventes	12
Equipos	12
5.1. Síntesis del ácido 4-(3-nitrobenzamida) benzoico (4CPB3N)	12
5.2. Síntesis de N-(4-nitrofenil)-3nitrobenzamida (4NPB3N) y N-(4-metoxi)-3-nitrobenzamida (4MPB3N)	13

5.3. Detalles computacionales	14
5.3.1. Determinación estructural, refinamiento y estudio supramolecular por DRX de monocristal	14
5.3.2. Estudio supramolecular con superficies de Hirshfeld	15
5.3.3. Estudios teóricos de frecuencias vibracionales por DFT.....	15
5.3.4. <i>Docking</i> con proteínas de <i>Leishmania</i>	15
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	16
6.1. Mecanismo de reacción para las síntesis realizadas	16
6.1.1. Obtención de 4CPB3N a partir de benzoatos	16
6.1.2. Obtención de 4MPB3N y 4NPB3N.....	18
6.2. Análisis estructural	19
6.3. Análisis supramolecular.....	23
6.4. Análisis de las superficies de Hirshfeld.....	28
6.5. Análisis de frecuencias vibracionales	34
6.6. Análisis de resultados relevantes del <i>docking</i> molecular con proteínas de <i>Leishmania spp</i>	38
7. CONCLUSIONES	44
8. PROYECCIONES	46
9. REFERENCIAS	47
10. ANEXOS	54

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁG
1. Redes de Bravais.....	4
2. Ley de Bragg.....	6
3. Esquema de reacción para la obtención de 4CPB3N.....	12
4. Esquema de reacción para la obtención de 4MPB3N y 4NPB3N.....	12
5. Mecanismo de la formación de 4CPB3N vía benzoatos de picrilo.....	16
6. Mecanismo de la formación del cloruro de 3-nitrobenzoilo.....	17
7. Mecanismo de la formación de 4MPB3N y 4NPB3N.....	18
8. Diagramas ORTEP A) 4CPB3N, B) 4MPB3N y C) 4NPB3N.....	21
9. Empaquetamiento cristalino de 4CP3N.....	23
10. Empaquetamiento cristalino de 4MPB3N.....	24
11. Empaquetamiento cristalino de 4NPB3N.....	25
12. Superficies de Hirshfeld de 4CPB3N en posición frontal y su rotación de 180°	28
13. Superficies de Hirshfeld de 4CPB3N en posición frontal y su rotación de 180°	29
14. Superficies de Hirshfeld de 4CPB3N en posición frontal y su rotación de 180°	30

ÍNDICE DE TABLAS

	PÁG
1. Datos cristalográficos.....	18
2. Comparación entre distancias de enlace, ángulos de torsión y ángulos dihedrales....	20
3. Enlaces de hidrógeno e interacciones débiles presentes en los compuestos de estudio.....	22
4. Huellas dactilares de sistemas cristalinos 4CPB3N, 4MPB3N y 4NPB3N.....	31
5. Tabla de frecuencias vibracionales experimentales y teóricas.....	34
6. Valores de energía de unión más negativos para algunas proteínas de <i>Leishmania major</i> calculados por <i>docking</i> molecular.....	38
7. Visualización interacciones proteína-ligando 2D y contraposición de los sistemas de estudio en el sitio activo.....	39

1. INTRODUCCIÓN

El estudio estructural y supramolecular de un sistema cristalino a partir de los resultados obtenidos por la Difracción de Rayos X (DRX) de monocristal, permite analizar de manera profunda cómo se comportan las moléculas en el espacio tridimensional y como este comportamiento está definido por las interacciones intermoleculares que se presenten entre ellas. Llevar a cabo este tipo de estudios en fenil benzamidas es de relevancia porque estas presentan gran variedad de aplicaciones, las cuales van desde ser intermediarios en reacciones de síntesis de compuestos con actividad biológica,¹⁻³ hasta exhibir interesantes propiedades farmacológicas como agentes antimicrobiales,⁴ antibacteriales⁵ y antiinflamatorios.⁶ También se han estudiado como principios activos de interés para el tratamiento de procesos carcinógenos y tumorales.⁷⁻⁹

Actualmente el grupo de investigación en cristalografía de la Universidad del Valle ha enfocado sus estudios en la determinación estructural de compuestos de tipo carbonilo, como esteres derivados del ácido pícrico,¹⁰⁻¹² donde se analizó el efecto del cambio de grupo funcional en el anillo fenilico y esteres derivados del anillo quinolinico,^{13,14} a los cuales se les realizó estudios teóricos por el método DFT (Density Functional Theory) y analizó su comportamiento cristalino por superficies de Hirshfeld. Finalmente se han realizado estudios de benzamidas derivadas de la 2-nitroanilina^{15,16} y del 2-amino-5nitrotiazol.¹⁷

En el presente trabajo se realizó un estudio estructural y supramolecular de tres X-fenil-3-nitrobenzamidas (X= COOH, OCH₃ y NO₂), donde se analizó las interacciones intermoleculares y el empaquetamiento cristalino de cada sistema, se realizaron a su vez análisis de las superficies Hirshfeld y sus representaciones 2D o huellas dactilares, obteniendo una visión más amplia y detallada del comportamiento de estos. De manera simultánea cada uno de estos sistemas fue caracterizado por espectroscopia IR y se realizó cálculos teóricos de frecuencias vibracionales por el método de DFT, con el fin de comparar cambios en ellas. Finalmente se realizó un *docking* molecular contra un banco de proteínas de *Leishmania*, para buscar posibles aplicaciones de los sistemas de estudio como principios activos y analizar el tipo de interacciones que hacen dentro de las proteínas con mejores valores aproximados de energía libre de unión ligando-proteína.

2. ANTECEDENTES

2.1. Métodos de obtención

Los métodos generales de síntesis de benzamidas sustituidas comprenden una diversidad de rutas sintéticas vía ácidos carboxílicos o vía cloruros de acilo, empleando diferentes tipos de aminas tanto primarias como secundarias como nucleófilos. En la mayoría de los casos, las metodologías de síntesis van acompañadas de catálisis básica¹⁸⁻²⁰ para obtener los compuestos de interés y de la modificación de parámetros como los tiempos y solventes de reacción en dependencia de la complejidad de los reactivos de partida.^{5,6,21}

Otro método de síntesis comprende el rompimiento de sistemas ester para formar estos compuestos. En el trabajo realizado por Kim y colaboradores,²² las reacciones de amidación se llevaron a cabo por rompimiento de ésteres a temperatura ambiente asistida por ter-butóxido de potasio en THF, donde se evaluaron distintos ésteres alifáticos y aromáticos, obteniéndose porcentajes de rendimiento a nivel de trazas para los ésteres aromáticos. Finalmente se encontró en el trabajo de Ibrahim y colaboradores,²³ el estudio de la cinética, regioselectividad y mecanismo del rompimiento de los benzoatos de picrilo en metanol utilizando la anilina como nucleófilo para formar fenil benzamidas.

2.2. Aplicaciones

Las mayoría de aplicaciones de este tipo de compuestos se encuentra en el área de la farmacología y está relacionada con el comportamiento del fragmento amídico, ya que este puede “imitar” la conformación de dos aminoácidos consecutivos y ser utilizado como falso sustrato por algunas enzimas, causando la inhibición de sus procesos normales.

Las fenil benzamidas con sustituyentes fluorados han demostrado tener actividad antimicrobial al inhibir la función de las peptidasas que contribuyen a la formación de la pared celular de microbios y bacterias.⁴ A su vez este tipo de compuestos son idóneos para ser utilizados en la formación de complejos con metales de transición como el Cobalto, los cuales han demostrado

tener un amplio espectro de su actividad antibacterial *in vitro*.⁵ Adicionalmente estos sistemas se estudian como agentes antiinflamatorios, debido a la inhibición de la enzima ciclooxygenasa (COX), siendo probada esta actividad *in vitro*, y en ratas *in vivo*.⁶

En los procesos relacionados con el tratamiento del cáncer, se han realizado estudios de los mecanismos por los cuales diversas benzamidas N-sustituidas causan la apoptosis celular;⁸ para el caso de las bupiridimetil benzamidas se ha estudiado su efecto sobre procesos como la angiogénesis, involucrado con el crecimiento tumoral y la metástasis, donde actuarían como inhibidores del factor de crecimiento vascular endotelial.⁷ Finalmente se ha observado que la presencia del grupo amido sobre un anillo fenilo en medicamentos como el GLIVEC, es el responsable de la inhibición de la actividad sobre tirosinas kinasas.⁹

Este tipo de estructuras también son utilizadas como precursoras para moléculas más complejas que tienen actividad biológica, como es el caso de las benzotiadazinas 4-onas,¹ 3H-quinazolin-4-onas 2-3 disustituidas³ y las oxazolin-4-onas.²⁴ En estudios cristalográficos han sido estudiadas como estimuladores de la formación de polimorfos, donde el grupo amídico central sería el responsable de esta formación, siendo el factor polimórfico de gran interés en la industria farmacéutica.^{25,26}

3. MARCO TEÓRICO

3.1. Cristales

Un cristal está conformado por átomos, iones o moléculas que se ordenan o empaquetan en una distribución espacial definida denominada *celda unitaria*, la cual está definida por las longitudes de sus tres aristas (a, b, c) y el valor de los ángulos entre estas (α , β , γ).²⁷ La repetición sistemática de estas celdas unitarias a través del espacio tridimensional se denomina *red cristalina*.

Los parámetros mencionados que definen la celda unitaria pueden ser diferentes entre sí, existiendo siete formas de combinarlos, las cuales se conocen como *sistemas cristalinos*, y son: *Triclínico*, *Monoclínico*, *Ortorrómbico*, *Tetragonal*, *Hexagonal*, *Trigonal* o *romboédrico*, y

Cúbico. A su vez cada celda unitaria se puede subdividir, según la posición que adopten los puntos reticulares (átomos, moléculas o iones) en ella, en: Tipo P (Celda *primitiva*), Tipo F (Celda *centrada en las caras*), Tipo I (Celda *centrada en el cuerpo*), y Tipo C (Celda *centrada en la base*). Finalmente existen 14 posibles formas para describir los cristales, y cada una de ellas va a estar identificada por un sistema cristalino y un tipo de posición reticular (ver fig.1), a estas formas se les conoce como *Redes de Bravais*.²⁸⁻³⁰

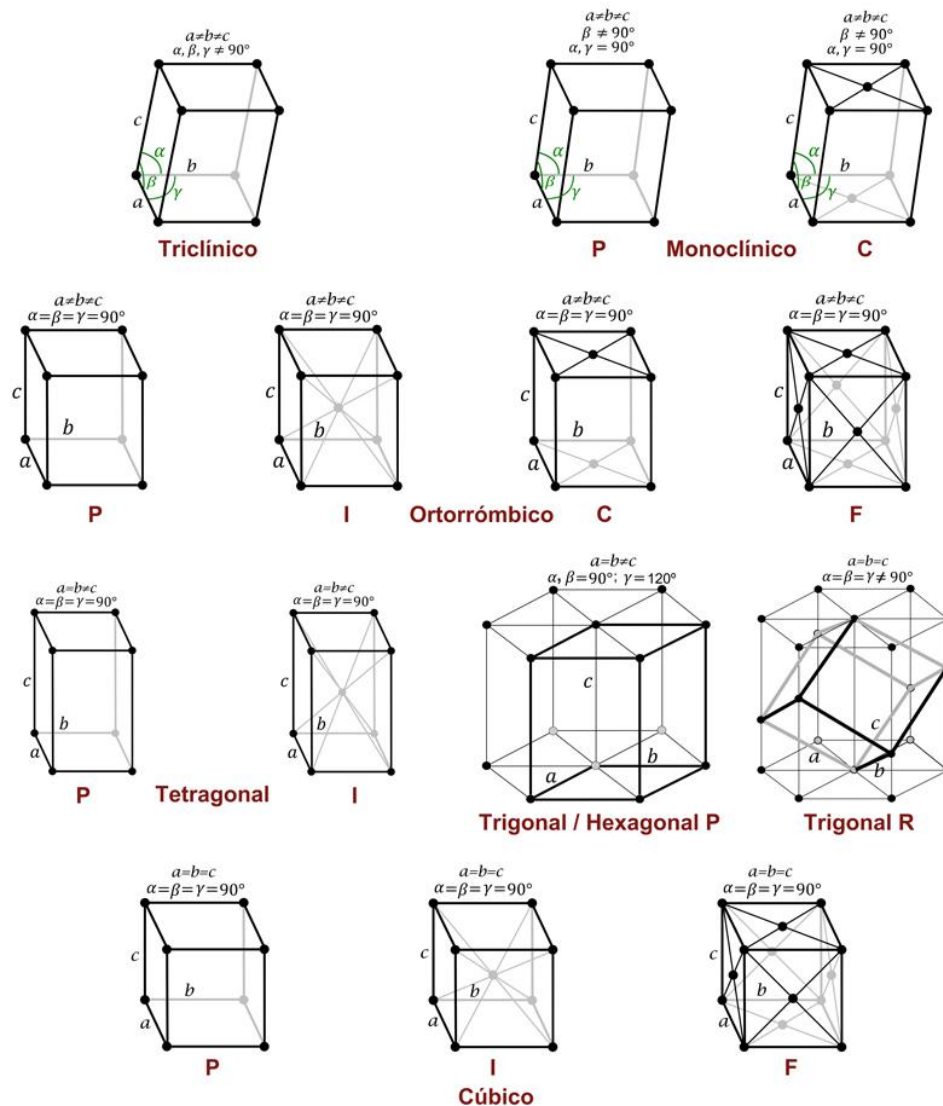


Fig 1. Redes de Bravais³¹

3.2. Simetría

Un objeto o motivo tiene simetría si alguna operación o movimiento sobre éste lo deja en una posición igual a la posición original. Este tipo de operaciones se denominan *operaciones de simetría* y el objeto sobre el que es realizada dicha operación se denomina *elemento de simetría*, estos últimos se agrupan en dos categorías:

- (i) Simetría de grupo puntual, cuando las operaciones se realizan alrededor de un punto ó eje.
- (ii) Simetría de grupo espacial, cuando se realiza una operación por medio de una translación.

La combinación de estos elementos de simetría, sin la traslación, genera 32 clases cristalinas o grupos puntuales. Al asociar estas 32 clases cristalinas con los 7 sistemas cristalinos mencionados y los elementos de simetría de traslación, se da origen a los 230 grupos espaciales³² en los cuales se clasifican los sistemas cristalinos.^{28,29}

3.3. Índices de Miller

Un cristal se puede tratar como un conjunto de planos paralelos equidistantes que pasan a través de los puntos de red o motivos de la misma, estos planos quedan definidos por el vector normal de ellos, el vector más usado es el (h, k, l) y corresponde a los índices de Miller (hkl) . El plano que se encuentra más cercano al origen corta a los ejes en coordenadas $(a/h, 0, 0)$, $(0, b/k, 0)$ y $(0, 0, c/l)$, donde a, b y c son los parámetros de red de la celda.²⁷

3.4. Difracción de Rayos X

Los rayos X se encuentran entre la región de los rayos UV y los rayos γ , en un intervalo de longitudes de onda que comprenden valores de 100 a 1 Å. Son originados por la desaceleración rápida de electrones muy energéticos (del orden 1KeV) al chocar con un blanco metálico. La producción de rayos X se da en un tubo que está constituido por dos electrodos (cátodo y ánodo), una fuente de electrones (cátodo caliente) y un blanco. Los electrones se aceleran mediante una diferencia de potencial entre los electrodos y la radiación es producida justo en la zona de impacto de los electrones emitiéndose en todas las direcciones.^{30,33}

La red periódica en la que se organizan los átomos en un cristal tiene un interespaciado del orden de unos cuantos Å, por lo tanto si una onda de rayos X se encuentra con esta, se genera el fenómeno de la difracción. A su vez la interacción de esta radiación con la capa electrónica de los átomos genera un *patrón de difracción*, que es el resultado de la interferencia constructiva y destructiva de la radiación dispersada.

La condición para que exista interferencia constructiva, es que la diferencia de longitud de camino óptico (d) entre los rayos procedentes de planos sucesivos debe ser igual a un número entero de λ dado por $2d\sin\theta = n\lambda$. Donde θ es el ángulo del rayo incidente y λ la longitud de onda de este. A esta relación se le conoce como *Ley de Bragg*²⁷ (fig. 2).

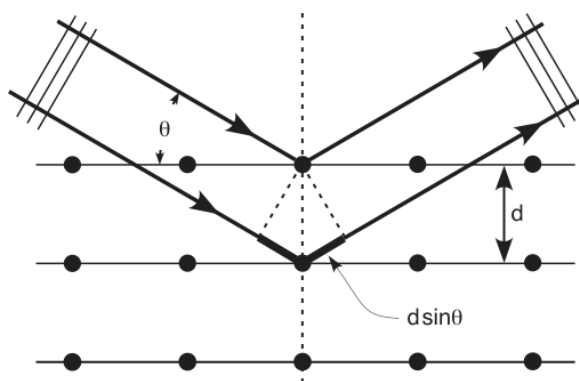


Fig 2. Ley de Bragg³⁴

El patrón generado después del fenómeno de la difracción será el producto inicial que proporciona un difractómetro de rayos X y consiste en miles de puntos que son los datos crudos. La descripción completa (posición, intensidad y fase) de cada uno de estos puntos, llamados también “reflexiones”, se le denomina *factor de estructura*, $F(hkl)$. La posición e intensidad sería determinada sin mayores inconvenientes, pero las fases de las ondas que formaron cada punto deben ser también determinadas para producir un mapa de densidad electrónica. La ausencia de la información de la fases, constituye en cristalografía lo que se conoce como *problema de la fase*.²⁷

Se conocen muchos métodos tradicionales para solucionar el problema de la fase, los cuales proporcionan una solución parcial a la estructura y los más usados para moléculas pequeñas son:

- Método de Paterson: Utiliza las intensidades $I(hkl)$ que son proporcionales a $[F(hkl)]^2$, en vez de solo el factor de estructura.³⁵
- Métodos directos: Basado en procedimientos estadísticos y depende de la probabilidad de tratar átomos de la celda unidad en una distribución al azar.³⁵

3.5. Superficies de Hirshfeld

Las superficies de Hirshfeld determinan el espacio que ocupa una molécula dentro del cristal, para lo cual se define la función $W(r)$:

$$\frac{\sum_{a \in \text{molec}} \rho_a(r)}{\sum_{a \in \text{cristal}} \rho_a(r)} \simeq \frac{\rho_{\text{molec}}(r)}{\rho_{\text{cristal}}(r)} \quad 1$$

En donde el numerador corresponde a la suma de la distribución electrónica de todos los átomos en la molécula y el denominador a la suma de esta distribución para el cristal.³⁶

Se encuentran tres tipos de superficies: d_{norm} Curvedness y Shape Index. La primera es función de las distancia d_e y d_i y de los radios de Van der Waals y las dos últimas son funciones de las curvaturas locales k_1 y k_2 . Las funciones correspondientes^{37,38} se muestran en el anexo 1.

3.6. Teoría del Funcional de Densidad

El método DFT es un modelo mecánico-cuántico empleado para realizar cálculos de estructura electrónica sobre un sistema determinado, donde se emplea la densidad electrónica, $\rho(x, y, z)$ para calcular la energía. Esta densidad es una característica física de los sistemas y es independiente del número de electrones del mismo, quedando definida la energía como un funcional de la densidad electrónica $E=F[\rho(x, y, z)]$.³⁹

Uno de los objetivos en el DFT es calcular este funcional, para lo cual se utilizan diversas aproximaciones las cuales se pueden realizar de múltiples maneras y se dividen en tres clases: Métodos que utilizan una aproximación de densidad local (LDA), métodos que combinan cálculos de densidad electrónica con un factor de corrección del gradiente y finalmente los más

populares, que son los métodos híbridos, que son una combinación de la aproximación de energía de intercambio de Hartree-Fock y DFT, todo combinado con un funcional que incluye la correlación electrónica.⁴⁰

La aplicación de métodos de cálculos de estructura electrónica para los cálculos de las frecuencias armónicas de sistemas moleculares ha permitido la interpretación de espectros experimentales complejos, ayudando a la identificación de distintas moléculas. La evaluación teórica de estas frecuencias vibracionales es realizada calculando las segundas derivadas de la energía total con respecto a las coordenadas cartesianas, lo cual es realizado de manera eficiente por varios programas modernos.³⁹

3.7. *Docking* molecular

La unión de moléculas pequeñas (ligandos) a dianas proteicas (receptores) es la clave de numerosos procesos biológicos asociados con el desarrollo de enfermedades. El objetivo del acoplamiento molecular o Docking es la predicción precisa de los modos en que se puede unir este ligando al centro activo de la proteína, lo cual es de importancia para el descubrimiento de nuevos principios activos y el diseño de fármacos basados en la estructura, permitiendo el ahorro de tiempo y recursos económicos en estos procesos.⁴¹⁻⁴⁵

El principio fundamental del acople molecular es considerar la unión no covalente de una proteína o enzima con un ligando $E + L \leftrightarrow EL$, donde la constante de unión se puede definir como $k_b = [EL]/[E][L]$, y la energía libre de unión $\Delta G_b = -RT \ln k_b$, siendo R la constante de los gases y T la temperatura en K. Entre más negativo sea el valor de ΔG mayor será la fuerza de la unión proteína-ligando y mayor será la estabilidad de este complejo.⁴⁵

Para conocer los posibles modos de unión se utilizan una gran variedad de métodos y estrategias asociadas a los mismos, sin embargo todos se pueden describir como una combinación de dos componentes: un algoritmo de búsqueda y una función de puntuación.⁴⁴

El algoritmo de búsqueda define la cantidad de “poses” posibles que pueden adoptar el ligando y el receptor, lo ideal sería entonces tomar en cuenta todas las distorsiones, rotaciones y traslaciones probables para cada uno, pero esto implicaría un costo computacional exorbitante. Por lo tanto la cantidad de poses exploradas se debe limitar dentro de unos parámetros y aproximaciones, es aquí, donde se considera el receptor o proteína como un cuerpo rígido y el ligando flexible. Sin embargo, este algoritmo debe ser lo suficientemente preciso para identificar la conformación del ligando que mejor se adapte al receptor y a su vez lo suficientemente rápido para permitir la evaluación de muchos compuestos en un tiempo mínimo. Estos se pueden clasificar en tres tipos: de búsqueda sistemática, de búsqueda aleatoria o estocástica, y métodos de simulación (dinámica molecular).^{44,45}

Finalmente esta búsqueda de poses no sería útil sin una función de puntuación que permita evaluar todos esos posibles modos de unión explorados e identificar cuáles son los más cercanos al modo de unión experimental, lo cual es un aspecto crucial en todo el proceso, ya que permite descartar las poses “correctas” de las “incorrectas”. Una función de puntuación rigurosa también implicaría un gasto computacional mayor, por lo cual se crean estrategias para obtener funciones de puntuación confiables que tengan en cuenta solo los parámetros más relevantes (estéricos, hidrofóbicos, enlaces de hidrógeno, entre otros) en la interacción proteína-ligando. Actualmente se aplican tres tipos o clases de funciones de puntuación: basadas en el campo de fuerza, empíricas y basadas en el conocimiento.^{44,45}

3.8. Leishmaniasis

La Leishmaniasis es una enfermedad causada por distintas especies de protozoos parasitarios del género *Leishmania*, para la cual no se tiene vacuna establecida aun.⁴⁶ Se identifican tres formas principales de esta enfermedad según la OMS:⁴⁷ visceral (forma más grave), cutánea (mas común) y mucocutánea. Afecta aproximadamente a 98 países alrededor del mundo, siendo Brasil y Colombia los más afectados en América Latina.⁴⁸ El uso de métodos *in silico* para el descubrimiento de nuevos fármacos que tengan actividad antileishmania es una de las opciones más rápidas en la actualidad para filtrar de grandes bancos de moléculas las que puedan ser

elegibles para ensayos in vitro, donde dicha actividad biológica puede ser comprobada con mayor certeza y llevada a la producción de un nuevo medicamento.

4. OBJETIVOS

4.1. General

Realizar un estudio estructural por difracción de rayos X de monocristal, análisis supramolecular, frecuencias vibracionales y acople molecular del efecto de grupo funcional en X-fenil 3-nitrobenzamidás.

4.2. Específicos

- Sintetizar y caracterizar por DRX de monocristal las fenilnitrobenzamidás derivadas del ácido p-aminobenzoico, la p-anisidina y la 4-nitro anilina.
- Analizar de manera comparativa el comportamiento estructural y supramolecular (establecimiento de interacciones intermoleculares y análisis de la superficie de Hirshfeld) de los compuestos obtenidos.
- Efectuar cálculos teóricos (DFT) de frecuencias vibracionales para compararlos con los IR obtenidos de los compuestos sintetizados.
- Evaluar las posibles propiedades como farmacóforos de los compuestos sintetizados por medio del software de acople molecular AutoDock Vina contra un banco de proteínas de *Leishmania*.

5. SECCIÓN EXPERIMENTAL

Reactivos y solventes

Los siguientes reactivos y solventes usados para la síntesis y cristalización de los sistemas objetivo fueron adquiridos del Aldrich Chemical Co., y usados sin purificación previa: Cloruro de 3-nitrobenzoilo, ácido pícrico, cloruro de tionilo, ácido p-aminobenzoico, 4-nitroanilina, p-metoxianilina. Tolueno, etanol, acetonitrilo, piridina.

Equipos

-Fusiómetro electrotérmico PHG Rundfunk-Fernsehen Niederdorf (Laboratorio de Cristalografía Universidad del Valle).

-Estereoscopio Olympus (sz-11) (Laboratorio de Cristalografía Universidad del Valle).

-Espectrofotómetro Shimadzu FTIR Affinity-1 de transformada de Fourier (Laboratorio de Espectroscopia, Departamento de Química Universidad del Valle).

-Difractómetro de rayos X de monocristal: Equipo Bruker _ Nonius Kappa CCD, con detector de área. (Instituto de Física de São Carlos, Universidad de São Paulo, Brasil)

5.1. Síntesis del ácido 4-(3-nitrobenzamida) benzoico (4CPB3N)

Se disolvió el 3-nitrobenzoato de 2,4,6-trinitrofenilo, sintetizado según la metodología publicada,⁴⁹ y el ácido p-aminobenzoico (PABA), en relación 1:2, en 20 mL de tolueno, siendo adicionados a un balón de reacción y puestos en reflujo durante 4 horas a una temperatura de 70 °C. Al término de la reacción se filtra en caliente el sólido obtenido. Finalmente se somete a un proceso de recristalización en acetonitrilo.

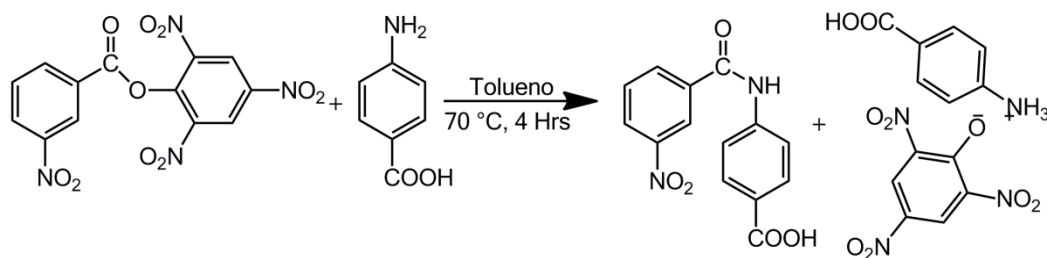


Fig 3. Esquema de reacción para la obtención de 4CPB3N.

5.2. Síntesis de N-(4-nitrofenil)-3nitrobenzamida (4NPB3N) y N-(4-metoxi)-3-nitrobenzamida (4MPB3N)

Se sintetizó el cloruro de ácido por medio de la reacción de cloruro de tionilo y el ácido 3-nitrobenzoico, seguida de la adición de la amina correspondiente y piridina al balón de reacción (con destilación previa del cloruro de tionilo en exceso). Al término de la reacción (2 hrs para 4MPB3N y 3 hrs para 4NPB3N) se evapora el acetonitrilo a 100⁰ C. Al sólido obtenido se le adiciona 10 ml agua y 5 ml Na₂CO₃ al 5% con el objetivo de neutralizar el HCl producido. El producto se lavó con agua caliente para el 4MPB3N y metanol para el 4NPB3N. Finalmente se somete al proceso de re cristalización en etanol para la 4MPB3N y en acetonitrilo para 4NPB3N.

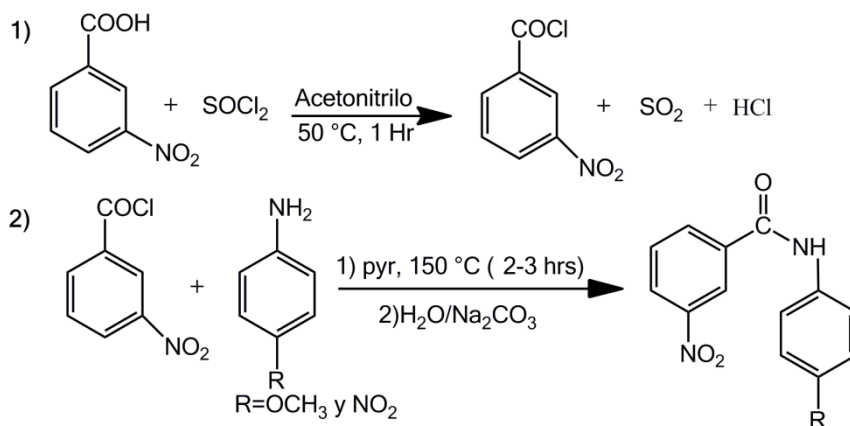


Fig 4. Esquema de reacción para la obtención de 4MPB3N y 4NPB3N.

5.3. Detalles computacionales

5.3.1. Determinación estructural, refinamiento y estudio supramolecular por DRX de monocristal

Las intensidades de todos los sistemas fueron colectadas a 293(2)K usando el difractómetro Nonius KappaCCD⁵⁰, donde el equipo uso un monocromador de grafito con una radiación MoK α ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). La reducción de los datos utilizo los programas DENZO y SCALEPACK⁵¹. Las correcciones por absorción se realizaron mediante el software SADABS⁵².

Los datos obtenidos de la difracción de rayos X consistieron en un conjunto amplio de reflexiones con su respectiva intensidad contenidas en un archivo .hkl, del cual se seleccionan las reflexiones observadas que cumplan con la condición $I > 2\sigma(I)$ y con estas se hallan las extinciones sistemáticas. A partir de estas reflexiones y los parámetros establecidos de la celda se hace la asignación del tipo de red de Bravais y del grupo espacial al cual corresponde el sistema cristalino en estudio⁵³.

Se resolvió la estructura por métodos directos haciendo uso del programa SHELXS-2014⁵⁴ y refinó la estructura por mínimos cuadrados usando el programa SHELXL-2014⁵⁴ contenidos en la plataforma estructural WINGX⁵⁵. Seguidamente se realizó una etapa final de refinamiento anisótropo de los parámetros de vibración térmica. Para el refinamiento de los átomos de hidrógeno se hace uso de modelos geométricos establecidos para su asignación, ya que su factor de dispersión es muy pequeño en comparación al de otros átomos, lo que dificulta su ubicación en el mapa de densidad electrónica⁵⁴. Finalmente se realizan varios ciclos de refinamiento, hasta que el factor de discordancia (R) converge a un valor mínimo. Otros parámetros como el R_w , el parámetro de bondad de ajuste de los datos S o la densidad remanente permiten dar por concluido el proceso de refinamiento.

Los modelos moleculares fueron preparados usando ORTEP-3⁵⁵. Se utilizó los programas PLATON⁵⁵ y PARST⁵⁵ para análisis de distancias de enlace, ángulos de torsión, ángulos

dihedrales e interacciones y el programa MERCURY 3.3⁵⁶ para la visualización del empaquetamiento cristalino e interacciones moleculares.

5.3.2. Estudio supramolecular con superficies de Hirshfeld

El análisis de las superficies de Hirshfeld y la huella dactilar o representación en 2D de estas surge como una nueva estrategia para el estudio del empaquetamiento cristalino teniendo en cuenta el espacio que ocupan las moléculas en la red cristalina y las interacciones de la molécula con sus moléculas vecinas, característica que no se puede observar en otro tipo de superficies donde se toma la molécula aislada³⁶. Se utilizó para este fin el paquete Crystal Explorer 3.1³⁸, que toma como archivo de partida el último CIF generado después de la resolución y refinamiento de la estructura.

5.3.3. Estudios teóricos de frecuencias vibracionales por DFT

Se realizaron cálculos teóricos de frecuencia vibracional empleando el programa Gaussian 09⁵⁷ y el método DFT, el cual es utilizado para cálculos de estructura electrónica donde la energía del sistema es un funcional de la densidad electrónica, es decir, no se describe una función de onda para el sistema⁵⁸⁻⁶¹. Para encontrar este funcional se han utilizado diferentes aproximaciones el utilizado aquí es el funcional de intercambio y correlación B3LYP³⁹, usando además la base 6-311G++(d,p), con la cual se obtuvo el menor de valor de energía respecto a otras bases utilizadas. Los resultados teóricos obtenidos para las frecuencias vibracionales fueron analizados usando el programa VEDA 4⁶², el cual permite hacer una asignación de las bandas de frecuencia con mayor precisión, ya que toma en cuenta cuantitativamente las diferentes vibraciones que pueden contribuir a la formación de una determinada interacción.

5.3.4. Docking con proteínas de *Leishmania*

Para los tres sistemas cristalinos se realizó un análisis de docking o acople molecular contra una base de datos de estructuras de proteínas de diferentes especies de *Leishmania*. Este método permite calcular la energía libre de unión aproximada entre un ligando y un receptor o proteína rígido teniendo en cuenta métodos semi-empíricos. El resultado es un conjunto de “poses”

acopladas al sitio activo, en la cual se destaca la que obtuvo el mejor puntaje a partir de los enlaces generados como puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas, entre otras^{44,45}.

La preparación de esta base de estructuras proteicas fue realizada dentro del proyecto “Drug Search for Leishmaniasis” por el grupo de investigación PECET de la Universidad de Antioquia, en colaboración con la Universidad de Texas Medical Branch en Estados Unidos⁶³. Esta consistió en la elección de 58 proteínas cristalizadas y depositadas en la base de datos PDB⁶⁴ (*Protein Data Bank*) provenientes de *Leishmania spp.*

Los PDB de las proteínas fueron parametrizados con el programa Autodock Tools^{65,66}. Específicamente se retiraron los cofactores, ligandos y moléculas de agua de la macromolécula que no fueran importantes para la formación de interacciones en el sitio activo. Luego se adicionó en la macromolécula los hidrógenos polares, se definieron los ángulos de torsión de los ligandos (sistemas cristalinos de estudio) y se calcularon las cargas de Gasteiger de los mismos. La caja tridimensional fue calculada con AutoDock Grid en el sitio de acoplamiento del ligando original con el que fue cocrystalizado la proteína. Autodock Vina⁶⁷ fue el sistema elegido para realizar los cálculos de predicción de energía libre de unión aproximada para la interacción proteína-ligando. Para la visualización de las interacciones en 3D se utilizó el software UCSF Chimera⁶⁸ y en 2D el software LigPlot⁶⁹.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Mecanismo de reacción para las síntesis realizadas

6.1.1. Obtención de 4CPB3N a partir de benzoatos

Para la obtención de esta nitrobenzamida se utilizó como precursores los benzoatos de picrilo y el PABA, la formación de amidas vía ésteres ya ha sido estudiada^{22,70}. Los benzoatos de picrilo han demostrado ser bastante reactivos debido al fragmento fenólico tri sustituido con grupos nitro, el cual sustrae carga del grupo carbonilo e incrementa la naturaleza electrofílica de su carbono, aumentando la probabilidad del rompimiento del enlace C-O por un ataque nucleofílico. Este

comportamiento ha sido observado en solventes como el metanol a temperatura ambiente causando reacciones de trans-esterificación⁷¹ y por tanto ha sido utilizado para formar amidas a partir de ellos utilizando como nucleófilo la anilina²³ y en nuestro grupo utilizando hidroxí y carboxi aminas⁷².

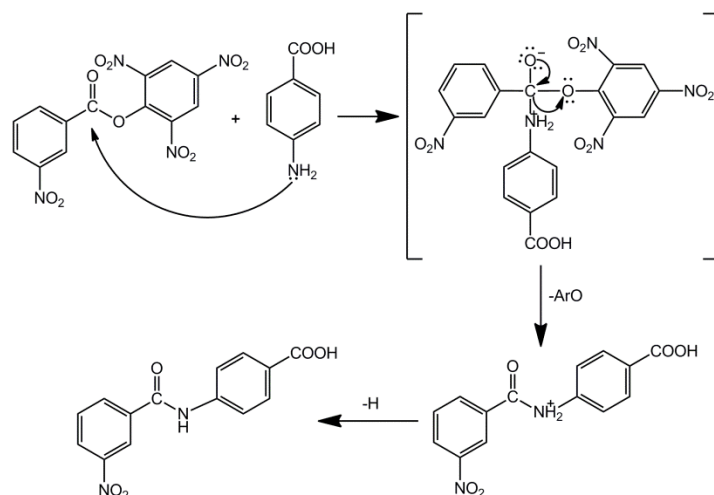


Fig 5. Mecanismo de la formación de 4CPB3N via benzoatos de picrilo.

El mecanismo inicia con el ataque nucleofílico del nitrógeno del grupo amino del PABA al carbono carbonílico del benzoato de picrilo, formando un intermediario tetraédrico, el cual ya ha sido estudiado para este tipo de reacciones con anilina²³. En este caso la diferencia está en que el nitrógeno del PABA sería menos nucleofílico debido a la presencia del grupo carboxilo en el anillo, el cual drena densidad electrónica, disminuyendo la eficiencia del ataque. Del intermediario tetraédrico se pasa a la amida protonada por la formación del doble enlace carbono-oxígeno y la salida del ión picrato, el cual actúa como buen grupo saliente lo que favorecerá el desarrollo de la reacción hacia la formación de productos. Finalmente la amida se desprotona generando el compuesto objetivo, el cual es insoluble en tolueno y se separa por filtración en caliente al término de la reacción. Los iones presentes en solución (picrato y H⁺) forman con la amina en exceso sales, las cuales fueron observadas de color rojizo una vez evaporado el solvente.

6.1.2. Obtención de 4MPB3N y 4NPB3N

La formación del cloruro de 3-nitrobenzoilo se realiza a partir del ácido carboxílico y el agente acilante SOCl_2 , donde el oxígeno del grupo carbonilo del ácido actúa como nucleófilo sobre el átomo de azufre electrofílico, formándose un intermediario sulfúrico tetravalente que pierde un ion cloruro, reformando así el doble enlace azufre-oxígeno para formar un segundo intermediario, un anhídrido mixto del ácido clorosulfínico susceptible a un nuevo ataque nucleofílico por parte de los iones cloruro presentes. Una vez efectuado el ataque aparece un último intermediario tetrahedral, donde se libera como grupo saliente el SO_2Cl^- .

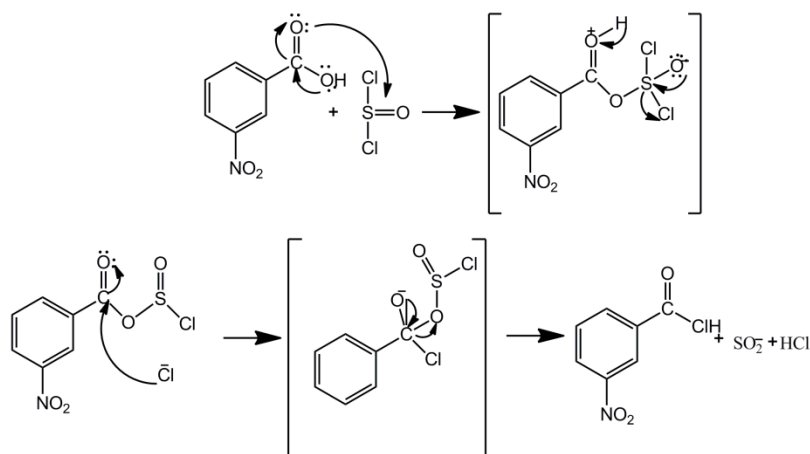


Fig 6. Mecanismo de la formación del cloruro de 3-nitrobenzoilo.

En la piridina, la presencia de los dos electrones libres, que no contribuyen a la aromaticidad del sistema y se encuentran ubicados en el plano perpendicular al anillo, puede actuar en primera instancia como un nucleófilo en primera instancia y aceptor de protones de la amina en la reacción. La segunda parte del mecanismo inicia cuando el nitrógeno de la piridina efectúa un ataque nucleofílico sobre el carbono del grupo acilo, formándose un intermediario acilpiridinio ya reportado para este tipo de reacciones²¹, el carbono central de este intermediario es nuevamente atacado por el nitrógeno de la amina ($\text{R}=\text{OCH}_3$, NO_2) formándose un último intermediario, el cual se estabiliza al salir la piridina generando el producto esperado.

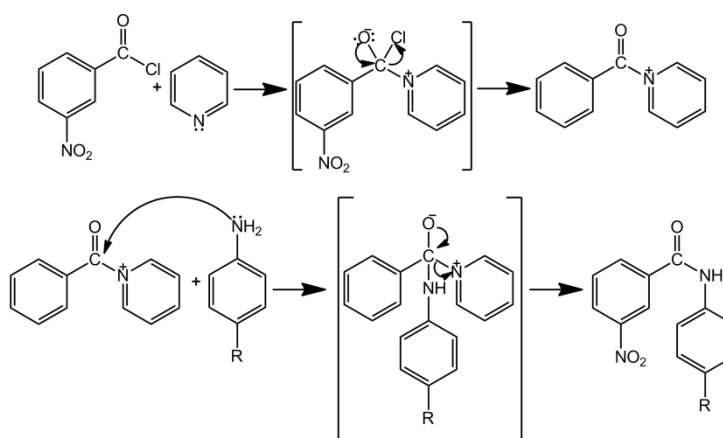


Fig 7. Mecanismo de la formación de 4MPB3N y 4NPB3N.

6.2. Análisis estructural

Efectuada la respectiva difracción de los sistemas cristalinos se obtuvo los archivos de partida para realizar su solución y refinamiento por medio de los programas contenidos en WINGX.

Como resultados se obtuvo el tipo de sistema cristalino establecido por las constantes y ángulos de la celda unitaria, la simetría cristalina, la cantidad de unidades asimétricas contenidas en la celda (Z), el grupo espacial del sistema y los parámetros que demuestran un buen comportamiento de los datos tratados respecto al modelo teórico: factor de discordancia (R), índice de discordancia ponderado (R_w) y parámetro de bondad de ajuste S. Los resultados se registran en la siguiente tabla.

Tabla 1. Datos cristalográficos.

Parámetros	4CPB3N	4MPB3N	4NPB3N
Fórmula molecular	$C_{14}H_{10}N_2O_5$	$C_{14}H_{12}N_2O_4$	$C_{13}H_9N_3O_5$
Peso molecular	286.24	287.23	272.26
Punto de fusión	555.15(1) K	444.15 (1) K	499.15 (1) K
Solvente cristalización	Acetonitrilo	Etanol	Acetonitrilo

Sistema cristalino	Triclínico	Monoclínico	Monoclínico
a	5.113	13.8086(4)	3.8100(4)
b	11.460 (1)	4.8985(1)	12.9644(11)
c	11.633 (3)	19.4851(5)	12.4698(14)
ángulos	$\alpha=67.24$, $\beta=89.38$, $\gamma=88.80$	$\alpha=90$, $\beta=102.589(1)$, $\gamma=90$	$\alpha=90$, $\beta=91.216(4)$, $\gamma=90$
V	628.40(0.08)	1286.31(0.06)	615.80(11)
Z	2	4	2
Posiciones equivalentes	x,y,z -x,-y,-z	x,y,z -x+1/2,y+1/2,-z+1/2 -x,-y,-z x+1/2,-y+1/2,z+1/2	x,y,z -x,y,-z+1/2 -x,-y,-z x,-y,z+1/2
ρ	1.280	1.406	1.549
λ (MoK α)	0.71073	0.71073	0.71073
Temperatura exp.	293 (2)	293 (2)	293 (2)
Reflex. Observadas	2530	28509	2464
Reflexiones indep.	2530	2781	1697
Parámetros refinados	191	186	194
Reflex. Con $I > 2\sigma I$	1084	2431	1697
Extinciones sistemáticas	No hay condiciones	hkl: No hay condiciones; h0l: h+l=2n; 0k0: k=2n; h00: h=2n; 00l: l=2n	hkl: No hay condiciones h0l: l=2n 00l: l=2n
Grupo espacial	$P_{\bar{1}}$	$P2_1/n$	$P2/c$
R	0.053	0.040	0.053
Rw	0.161	0.115	0.138
S	0.892	1.057	1.030

La molécula 4CPB3N cristalizó en un sistema triclínico con $Z=2$ y grupo espacial $P_{\bar{1}}$ el cual contiene como única operación de simetría el centro de inversión²⁹

La molécula 4MPB3N cristalizó en un sistema monoclinico con $Z=4$ y grupo espacial $P2_1/n$ el cual tiene como operaciones de simetría un eje helicoidal binario, centro de inversión y un plano de deslizamiento diagonal o “glide”²⁹.

Finalmente la molécula 4NPB3N cristalizó también en un sistema monoclinico pero con $Z=2$, lo cual es explicado porque la molécula inicial sobre la que se efectúan las operaciones de simetría

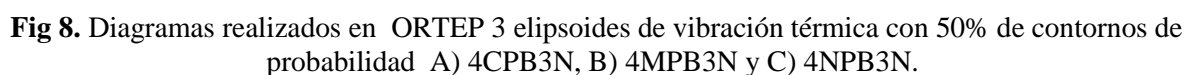
se encuentra sobre una posición especial, es decir sobre alguno de los elementos de simetría, lo que hace que el número de unidades asimétricas contenidas en la celda disminuya de 4 a 2, su grupo espacial P2/c tiene como operaciones de simetría un eje helicoidal binario, centro de inversión y un plano de deslizamiento a lo largo del eje c^{29} . Los factores R, R_w y S se encuentran en un rango donde se considera una buena concordancia de los datos obtenidos de la difracción de rayos X.

En la tabla 3 se registra las distancias de enlace, ángulos de torsión y dihedrales de interés. Los diagramas moleculares realizados en ORTEP para las estructuras moleculares de estudio son mostrados en la fig.8.

Tabla 2. Comparación entre distancias de enlace, ángulos de torsión y ángulos dihedrales.

Enlace	4CPB3N	4MPB3N	4NPB3N
Distancias DRX (Å)			
C1-C7	1.498(4)	1.499(2)	1.502(6)
C7-O1	1.229(3)	1.229(2)	1.211(6)
C7-N1	1.360(3)	1.343(2)	1.364(6)
N1-C8	1.414(3)	1.423(2)	1.406(6)
C3-N2	1.476(4)	1.469(2)	1.475(8)
C11-AR*	1.469(4)	1.373(2)	1.441(6)
Angulo (°)			
C1-N1-C7	116.1(2)	116.1(1)	117.1(4)
C8-C7-N1	127.3(2)	126.7(1)	127.6(4)
O1-C7-N1	123.2(3)	124.0(1)	123.2(4)
O1-C7-C1	120.7(2)	119.9(1)	119.7(4)
Acil Vs Aril	7.2 (2)	8.1 (1)	3.2 (2)
Acil Vs Amido	30.9 (1)	33.3(1)	9.3 (2)
Arilo Vs Amido	26.5 (1)	28.9 (1)	6.2 (3)
Nitro Vs Acil	0.7 (2)	2.9(1)	3.8 (4)
R*VsAril	2.3 (2)	4.4 (2)	9.7 (3)

*R=grupo COOH, OCH₃, NO₂. *AR= primer átomo del grupo R; *Anillo Acil=C1-C6, Anillo Aril= C8-C13.



No se observó una diferencia significativa en las distancias C3-N2, pero si hubo una variación importante entre los ángulos dihedrales Nitro Vs Acil con esta tendencia $4\text{MPB3N} < 4\text{NPB3N} < 4\text{CPB3N}$, esto se debe a las interacciones del grupo nitro con las moléculas vecinas (ver tabla 5).

La distancia C11-R tiene esta tendencia $4MPB3N < 4NPB3N < 4CPB3N$ es decir disminuye a medida que aumenta la electronegatividad del $O > N > C$. Donde la distancia de $4CPB3N$ es mayor debido a que el enlace de hidrogeno $C-H \cdots O$ presente entre grupos carboxi adyacentes fija estos en un solo plano formando un dímero. La planaridad del grupo carboxi permite mayor drenaje de carga por el grupo $COOH$ y por ende la distancia C11-R se alargará.

Los ángulos de torsión en el fragmento amida no muestran diferencias significativas siendo la diferencia máxima entre ellos de 1° , por lo cual no se observó un efecto de grupo funcional en ellos, se dará más relevancia al análisis de los ángulos dihedrales en la siguiente sección.

6.3. Análisis supramolecular

La manera en que las moléculas se ordenan en el espacio tridimensional es analizada de acuerdo al tipo de interacciones que surgen entre ellas, según las cuales se genera una organización de mayor estabilidad para la red cristalina. Al analizar el crecimiento supramolecular se da prioridad a los enlaces de hidrógeno, que son aquellos donde la distancia donar- aceptor (D...A) está entre 2.3-3.1 Å y el ángulo formado entre estos (D-H...A) está entre 130-180 °, se presenta entre a heteroátomos donores como el N, O y S con átomos aceptores que tienen por lo menos un par solitario disponible como N, O y S; seguidamente encontramos las interacciones débiles con D...A 3,0-3,5 Å y D-H...A entre 130-180 ° generalmente formado entre átomos de carbono y átomos aceptores como N, O y S.

En la siguiente tabla se presenta las interacciones observadas para cada sistema, el código de simetría donde se encuentra la molécula vecina con la que interactúa, distancia y ángulo correspondiente.

Tabla 3. Enlaces de hidrógeno e interacciones débiles presentes en los compuestos de estudio.

<i>4CPB3N</i>					
Códigos de simetría	D-H...A	D-H	H...A	D...A	D-H...A
-x,2-y,1-z	O5-H5A...O4 ⁱ	0.82	1.79	2.608	172.43(1)
-1+x,y,z	N1-H1...O1 ⁱⁱ	0.96	2.10	2.976	151.20(1)
-1-x,1-y,-z	C9-H9...O2 ⁱⁱⁱ	0.93	2.49	3.413	173.45(1)
-x,-y,-z	C4-H4...O3 ^{iv}	0.93	2.63	3.429	143.73(1)
<i>4MPB3N</i>					
Códigos de simetría	D-H...A	D-H	H...A	D...A	D-H...A
x,-1+y,z	N1-H1...O1 ⁱ	0.878(0.018)	2.104(0.018)	2.927(0.001)	155.95(1.64)
1-x,-y,-z	C9-H9...O3 ⁱⁱ	0.930(0.002)	2.524(0.001)	3.395(0.002)	156.06(0.10)
1/2-x,1/2+y,-1/2-z	C4-H4...O3 ⁱⁱⁱ	0.930(0.002)	2.550(0.001)	3.273(0.002)	134.85(0.10)
1/2-x,-1/2+y,1/2-z	C14-H14B...O1 ^{iv}	0.960(0.002)	2.528(0.001)	3.445(0.002)	159.77(0.12)
<i>4NPB3N</i>					
Códigos de simetría	D-H...A	D-H	H...A	D...A	D-H...A
-1+x,-y,1/2+z	N1-H1...O5 ⁱ	0.869(0.058)	2.380(0.058)	3.184(0.006)	154.03(5.01)
	C13-H13...O5 ⁱ	0.930(0.005)	2.478(0.004)	3.291(0.007)	146.07(0.34)
-1+x,1-y,1/2+z	C4-H4...O1 ⁱⁱ	0.930(0.005)	2.469(0.004)	3.284(0.006)	146.42(0.32)
x,-1+y,z	C12-H12...O2 ⁱⁱⁱ	0.930(0.005)	2.526(0.005)	3.426(0.007)	163.03(0.31)

A continuación se presenta el crecimiento supramolecular para cada sistema cristalino de estudio, primero observando desde un plano bidimensional las principales interacciones y seguidamente la manera en que se ordenan en el espacio tridimensional.

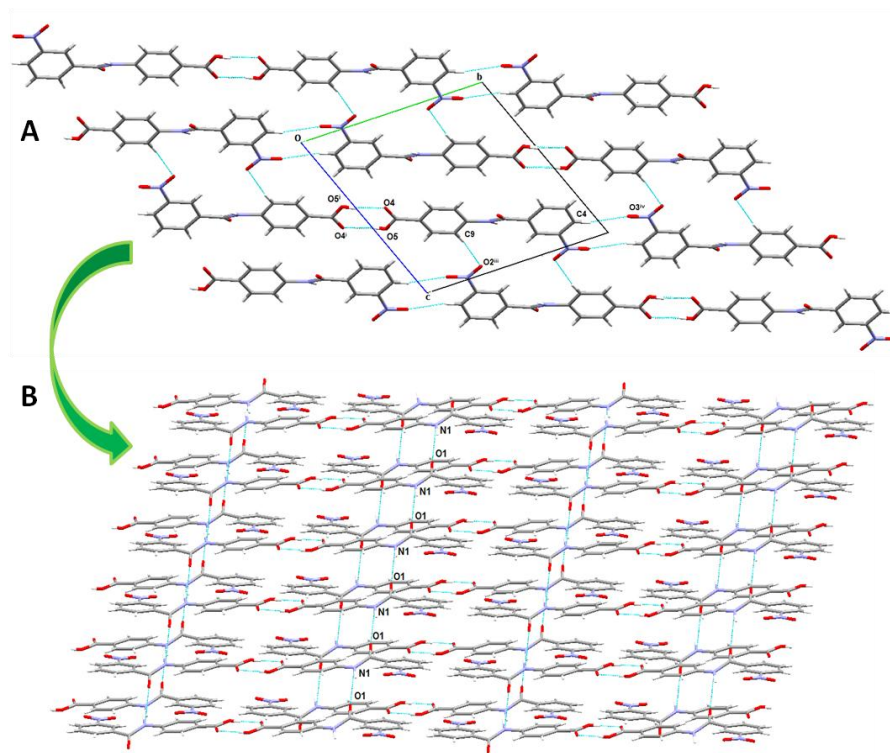


Fig 9. Empaquetamiento cristalino de 4CP3N. A) Crecimiento observado desde el plano [100]. B) Enlace de hidrógeno N1-H1...O1 y unión de planos.

En la fig.9A se observa a lo largo del plano[100] para 4CPB3N la formación de dímeros mediante el enlace de hidrógeno O5-H5A...O4ⁱ, donde el átomo de O5 (x,y,z) actúa como donador de enlace de hidrógeno para el átomo O4ⁱ (-x, 2-y, 1-z)^{73,74}. Los dímeros se unen por medio de la interacción débil C4-H4...O3^{iv} (-x,-y,-z) formando cadenas, las cuales se encuentran asociadas por medio de la interacción C9-H9...O2ⁱⁱⁱ (-1-x,1-y,-z) en la dirección c, formándose así un plano (-1 - 1 2) y anillos fusionados, caracterizados por la teoría de graphos⁷⁵: $R_2^2(8)$, $R_2^2(10)$, $R_2^2(20)$ y $R_6^6(46)$.

Finalmente el enlace de hidrógeno N1-H1...O1ⁱⁱ, donde el átomo N1 (x,y,z) actúa como donador y el átomo de O1ⁱⁱ (-x,2-y,1-z) actúa como aceptor, permite el crecimiento de la familia de planos como se observa en la fig. 9B .

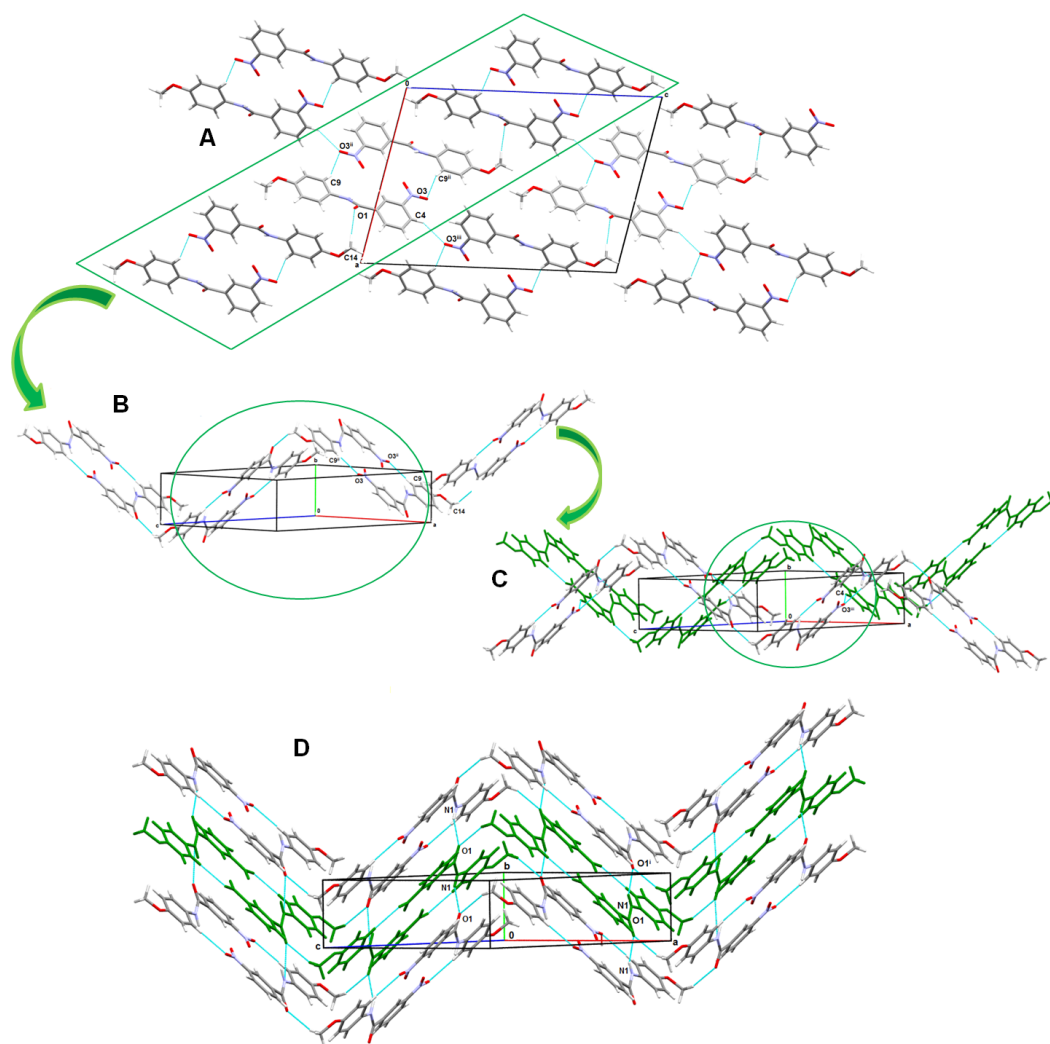


Fig 10. Empaquetamiento cristalino de 4MPB3N. A) Crecimiento observado desde el plano [010]. B) Cadena sencilla, B) Cadenas superpuestas a lo largo del eje b y C) Cadenas a lo largo del eje b. (Para B y C: en verde la cadena original).

En la fig.10A se observa a lo largo del plano [010] para 4MPB3N la formación de dímeros mediante la interacción $C9-H9...O3^{ii}$ ($1-x,-y,-z$). Estos dímeros se encuentran unidos entre sí por la interacción $C14-H14B...O1$, formando así cadenas escalonadas (rectángulo verde). Estas cadenas se encuentran unidas con sus cadenas vecinas a lo largo del eje c por la interacción $C4-H4...O3^{iii}$ ($1/2-x,1/2+y,-1/2-z$). Se observa también a lo largo de este plano la presencia de anillos fusionados $R_2^2(20)$ y $R_5^6(48)$.

Para mostrar el comportamiento en las tres dimensiones de las interacciones descritas se han creado las figuras 10B y 10C. En la primera se muestra la cadena escalonada nombrada (rectángulo fig.10A), donde es posible apreciar que los dímeros se encuentran ubicados en planos superpuestos y estos planos, (14 -5 -6) y (-28 10 12), forman entre ellos un ángulo de 88.59° (círculo verde). En la segunda se muestra que la cadena principal (color verde) se une otra de conformación inversa en dirección del eje c por la interacción $C4-H4 \dots O3^{iii}$, observándose entre ellas el anillo fusionado $R_5^6(48)$ (círculo color verde).

Finalmente la fig. 10D permite mostrar el enlace de hidrógeno^{76,77} $N1-H1 \dots O1^i$, donde el átomo N1 (x,y,z) actúa como donador del átomo O1 (x,-1+y,z), este enlace permite la unión de las cadenas escalonadas a lo largo del eje b, cumpliendo un papel similar al observado para el sistema 4CPB3N.

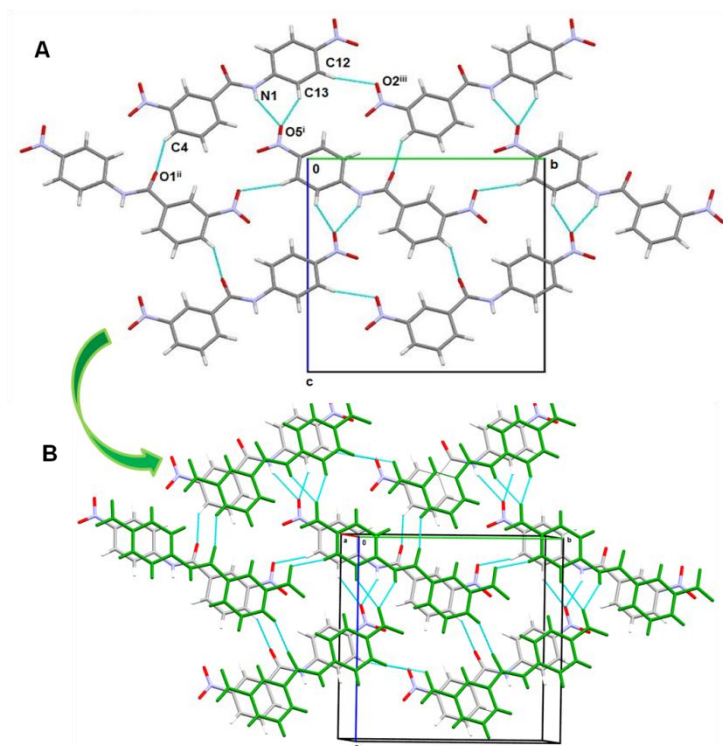


Fig 11. Empaquetamiento cristalino de 4NPB3N. A) Crecimiento observado desde el plano [100] y B) Plano paralelo a (1 0 2) (color verde).

Para 4NPB3N (fig. 11A) se encontró un crecimiento con comportamiento planar paralelo al plano (1 0 2). Este plano crece a lo largo del eje c debido a la interacciones de los átomos N1 y C13 (x,y,z) que actúan como donores de enlace de hidrógeno con el átomo O5ⁱ (-1+x,-y,1/2+z), y a la interacción débil C4-H4...O1ⁱⁱ (-1+x,1-y,1/2+z).

El crecimiento a lo largo del eje b lo genera la interacción C12-H12...O2ⁱⁱⁱ (x,-1+y,z). Las interacciones en este plano generan anillos fusionados $R_3^3(18)$, $R_1^2(6)$ y $R_3^3(20)$.

Análogamente la presencia de dos moléculas por unidad asimétrica fija esta familia de planos produciendo el crecimiento macromolecular a pesar de que no existan interacciones interplanares fuertes, donde el plano inicial esta de color verde (fig. 11B).

Este comportamiento planar es similar para estructuras donde el grupo nitro se encuentra en posición para o meta en alguno de los ^{20,78,79}si este grupo se encuentra en posición orto se observa planaridad^{16,80} Además este tipo de comportamiento permite la aparición de interacciones π - π ^{81,82}.

Para los tres sistemas se observó dos similitudes, la primera es que los anillos bencénicos se ubican sobre un solo plano, consecuencia de que el ángulo dihedral Aril Vs Acilo sea menor a 10 ° (ver tabla 3). Este tipo de comportamiento ha sido ya reportado para fenilbenzamidias monosustituidas en su anillo arilo en la posición para con grupos nitro, metoxi y carboxilo⁷⁸, donde el enlace de hidrógeno N1-H1...O1 estabiliza la molécula y favorece el apilamiento de planos en la dirección de un eje permitiendo la rotación del segmento amídico, lo cual se observo para 4CPB3N y 4MPB3N (Fig.9A y Fig.10D).

La segunda similitud es la planaridad del segmento amídico central en los tres sistemas, donde la desviación Rms de este plano es 0.0059 Å para 4CPB3N, 0.0018 Å para 4MPB3N y 0.0025 Å para 4NPB3N. Mostrando esto que para cada sistema tendríamos dos planos de estudio, uno donde se ubican los anillos bencénicos y otro donde se ubica el fragmento central amídico.

Teniendo en cuenta estas dos similitudes cabe preguntarse porque el empaquetamiento cristalino difiere tanto de un sistema a otro. La respuesta está en el comportamiento del átomo de O1 y las interacciones que este realiza, causando que el fragmento central amídico tenga una rotación mayor o menor respecto a los anillos bencénicos, lo que definirá el empaquetamiento cristalino.

Para los dos sistemas que presentan el enlace de hidrógeno N1-H1...O1, donde el átomo O1 actúa como aceptor, se observan ángulos dihedrales Acil Vs amido similares, siendo 30.9° para 4CPB3N y 33.3° para 4MPB3N, en cambio para el sistema 4NPB3N, donde este enlace está ausente, este ángulo dihedral es mucho menor siendo de solo 9.3° (ver tabla 3)

Finalmente se analiza el comportamiento del O1 respecto al plano C1-C6 (anillo acilo), donde este se posiciona a distancias similares para los dos sistemas que presentan la interacción N1-H1...O1, siendo esta 0.1272 Å para 4CPB3N y 0.1327 Å para 4MPB3N, en cambio para el sistema 4NPB3N, donde este enlace está ausente, esta distancia es de solo 0.0565 Å. Esto último está acorde a lo analizado para los ángulos dihedrales, ya que al aumentar estos esta distancia O1-anillo acilo lo hará también.

6.4. Análisis de las superficies de Hirshfeld

Se presentan tres tipos de superficies para cada molécula, la primera de ellas es la d_{norm} la cual surge de la normalización de las distancias de contacto d_e y d_i , donde se ha tomado en cuenta los radios de Van der Wals (vdW) para así poder visualizar de una manera eficaz los contactos cercanos entre átomos con mayores radios, como los oxígenos. Esta utiliza la gama de colores rojo-blanco-azul, donde los contactos más cortos que la suma de los vdW se representan de color rojo y su intensidad aumenta o disminuye de acuerdo a la distancia internuclear, los blancos corresponden a distancias iguales a la suma de estos radios y el azul a distancia mayores de esta suma³⁷.

Las siguientes dos superficies Curvedness y Shape Index corresponden a funciones de k_1 y k_2 (curvaturas principales). La primera se caracteriza por tener superficies extensas de color verde separadas por líneas azules que corresponden a interacciones cercanas no paralelas a la superficie. La segunda se caracteriza por poseer “huecos” complementarios donde dos superficies hacen contacto, siendo las áreas rojas “depresiones” donde los átomos actúan como aceptores en la interacción y las azules “protuberancias”⁸³ donde los átomos actúan como donores.

En la superficie d_{norm} de 4CPB3N (fig. 12A) las áreas rojas de mayor intensidad en la parte inferior (1) corresponden a los enlaces de hidrógeno O5-H5...O4 donde las moléculas adyacentes

están formando dímeros por medio de sus grupos carboxilos. Las áreas rojas a los lados de la superficie (2) corresponden al enlace N1-H1...O1 donde se está uniendo planos por medio de su grupo amido. Las áreas rojas menos intensas corresponden a la interacción C9-H9...O2 (3).

En Curvedness (fig. 12B) se observa que las líneas azules sobre las regiones verdes son distintas para cada cara, , indicando que la cara que se encuentra entrecruzada por las líneas azules (fig. 12B arriba) presenta interacciones perpendiculares a la superficie mientras que la cara con la región verde (fig. 12B abajo) presenta interacciones paralelas a su superficie.

Shape index (fig. 12C) muestra tres zonas cóncavas aceptoras (1) correspondientes a interacciones C...O, carbonos en el interior de la superficie y oxígenos externos a ella pertenecientes a grupos nitro. Las concavidades (2) son debido a interacciones C...H. Las zonas de enlace de hidrógeno O5-H...O4 se observan como una zona azul “donor” y otra roja cóncava “aceptora” (3).

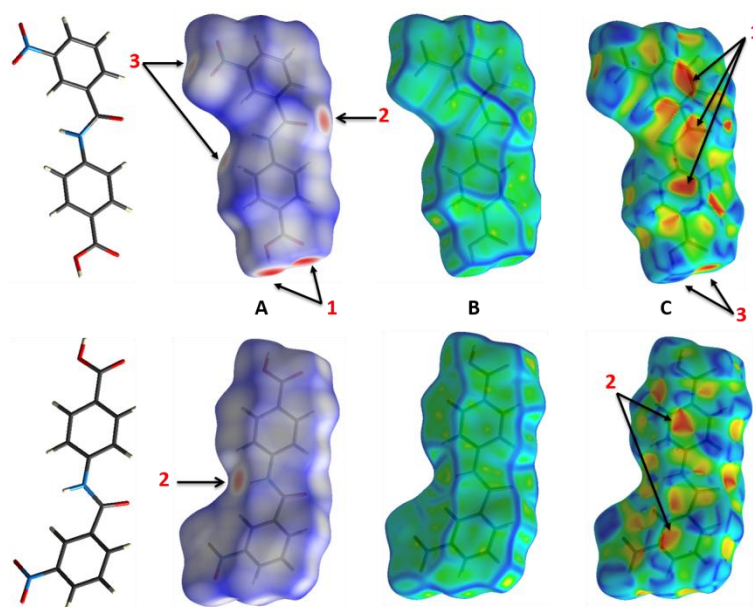


Fig 12. Superficies de Hirshfeld de 4CPB3N en posición frontal y su rotación de 180°. A) dnorm, B)curvedness y C) Shape Index

En la superficie d_{norm} de la molécula 4MPB3N (fig. 13A) se observa áreas rojas intensas (1) correspondientes al enlace de hidrógeno N1-H1...O1 por medio del cual se unen las cadenas paralelas en la dirección de b (fig.10D) y dos áreas rojas de menor intensidad (2) que

corresponden a las interacciones C9-H9...O3 causante de la formación del dímero. Al rotar la superficie 180 ° se observa dos áreas rojas poco intensas (3) correspondientes a la interacción C14-H14B...O1 responsables de la unión de los dímeros y dos áreas rojas tenues (4) correspondientes a la interacción C4-H4...O3 la cual une las cadenas con crecimientos opuestos (fig. 10C).

En Curvedness (fig. 13B) se observa que la superficie está entre superficies vecinas que no son paralelas a ella y por lo tanto los contactos no son los mismos en ambas caras. Tampoco presenta empaquetamiento entre planos paralelos entre sí.

Shape index (fig.13C) muestra zonas cóncavas (1) correspondientes a las interacciones C-H...O y C...O y zonas cóncavas (2) correspondientes a interacciones C-H... π , donde las zonas aceptoras están sobre la nube π del anillo al interior de la superficie. Finalmente se observan las zonas aceptoras y donoras del grupo metoxi y las concavidades (3) donde este hace contacto para formar la interacción C14-H14B...O1.

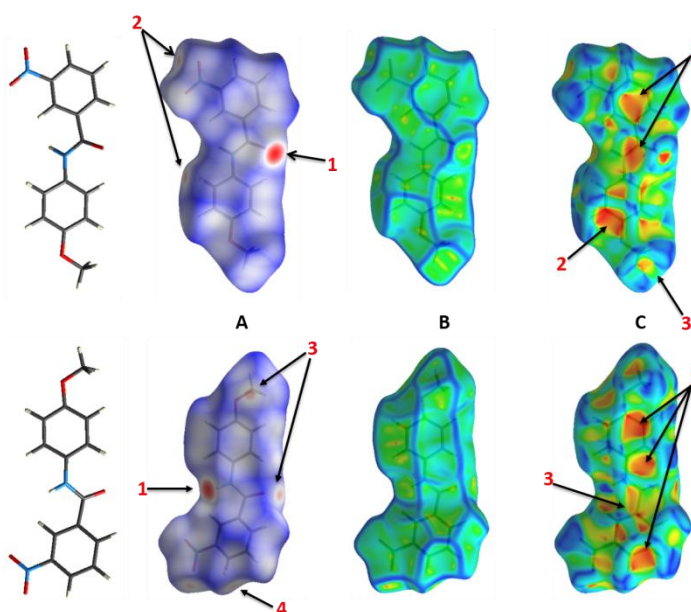


Fig 13. Superficies de Hirshfeld de 4MPB3N en posición frontal y su rotación de 180°. A) d_{norm} , B) curvedness y C) shape Index

Para 4NPB3N se observan una serie de áreas rojas poco intensas alrededor de la superficie (fig. 14A) correspondientes a las interacciones C4-H4...O1 (1), a las interacciones N1-H1...O5 y

C13-H13...O5 (2). Finalmente la interacción C12-H12...O2 (3). En la parte frontal no vemos ningún tipo de áreas rojas, lo cual indica ausencia de interacciones fuertes entre los planos de crecimiento.

Curvedness (fig. 14B) permite corroborar la ausencia de interacciones fuertes entre planos de crecimiento, donde la región verde que domina la parte frontal y trasera son similares, indicando que los planos están apilados de forma casi paralela en ambas direcciones, comportamiento característicos de la presencia de interacciones π - π entre ellos, las líneas azules que remarcan la extensión verde corresponde a las interacciones débiles C-H...O entre superficies vecinas.

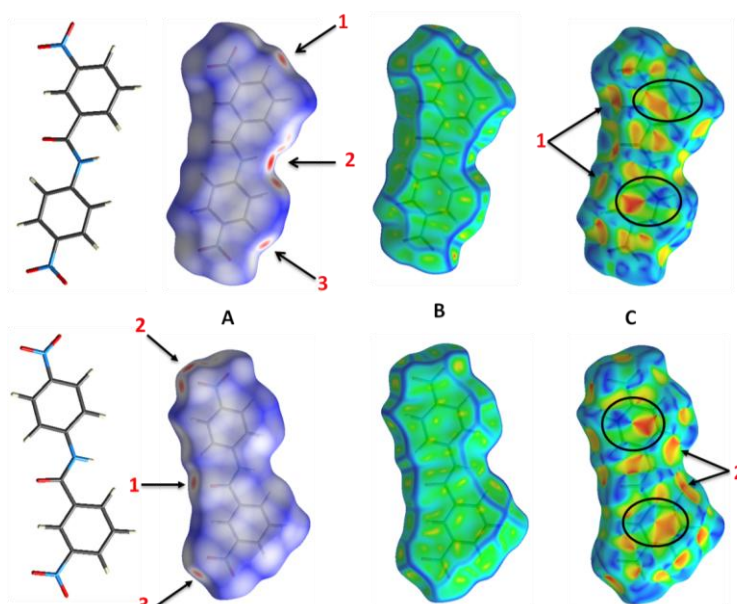
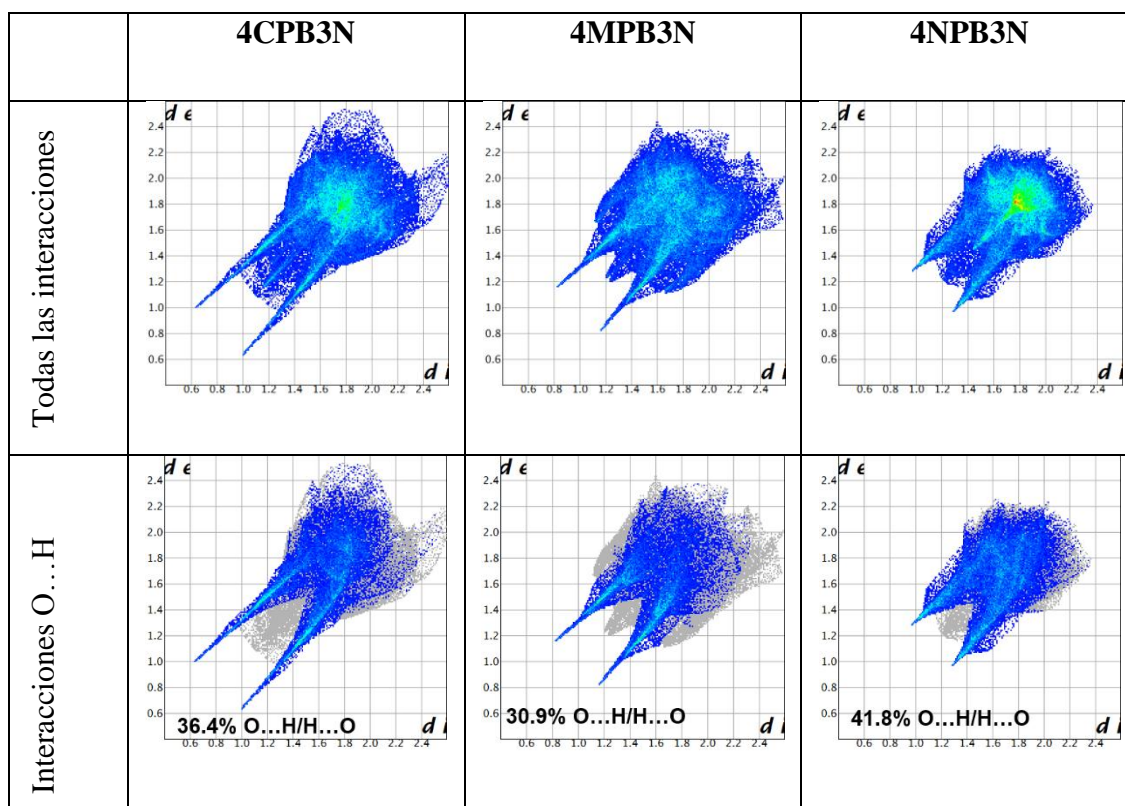


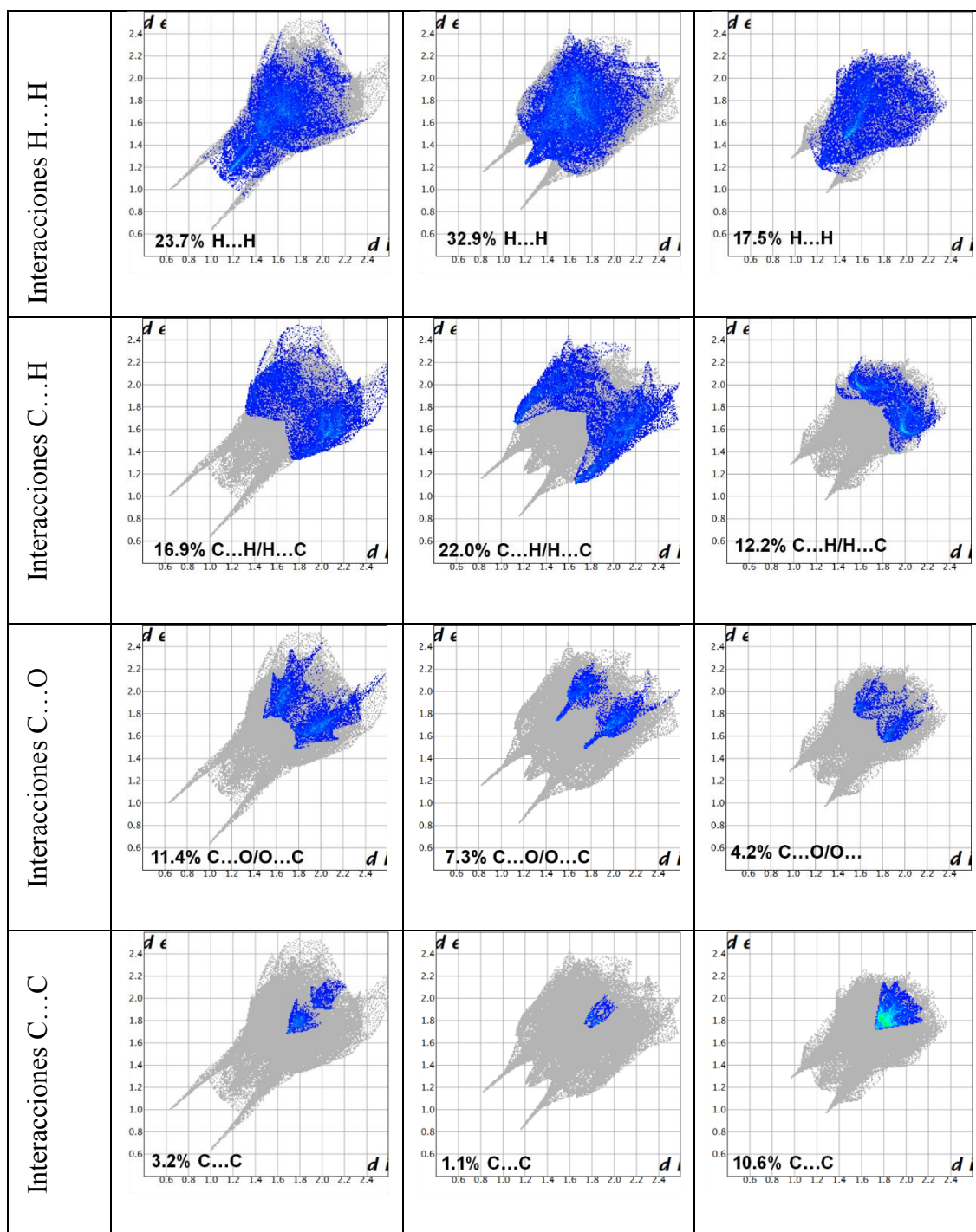
Fig 14. Superficies de Hirshfeld de 4NPB3N en posición frontal y su rotación de 180°. A) d_{norm} , B) Curvedness y C) Shape Index

Shape Index (fig. 14C) muestra las áreas laterales (1) con interacciones H...H, donde se observa la complementariedad rojo-azul para zonas donoras yceptoras. En las concavidades (2) se observa las interacciones C...O donde las superficies vecinas hacen contacto. Finalmente las zonas remarcadas con círculos muestran el patrón característico de las interacciones π - π , triángulos complementarios^{36,83} sobre las superficies, en este caso los patrones están difuminados o no son perfectamente triangulares, lo que demuestra que hay un corrimiento entre los planos que interactúan entre sí.

El estudio de las huellas dactilares permite analizar la contribución de cada tipo de interacción en la superficie, siendo las dominantes para los tres sistemas las O...H, H...H y C...H. Los ejes de las gráficas son las distancias d_e y d_i , donde la primera corresponde a la distancia sobre un punto de la superficie a otro cercano fuera de ella, el segundo corresponde a distancia de un punto sobre la superficie a otro cercano dentro de ella⁸⁴. En la siguiente tabla se observará la huella de cada sistema donde están reunidas todas las interacciones y la contribución de cada una de ellas de manera separada.

Tabla 4. Huellas dactilares de sistemas cristalinos 4CPB3N, 4MPB3N y 4NPB3N respectivamente.





Las interacciones O...H se observan como dos picos en la huella dactilar, donde la tendencia en el porcentaje de contribución es 4NPB3N>4CPB3N>4MPB3N, lo cual concuerda con las interacciones reportadas en la tabla 4. Sin embargo el 4CPB3N presenta los picos más intensos

debido a que las distancias d_e y d_i son menores para él, por la interacción O5-H5...O4 correspondiente al dímero. El segundo en intensidad es 4MPB3N, debido a la interacción N-H...O presente en este sistema. Finalmente se encuentra 4NPB3N el cual a pesar de tener en mayor porcentaje este tipo de interacciones, éstas son largas y débiles, lo que se refleja en un aumento de las distancias d_e y d_i .

Las interacciones H...H y C...H siguen en porcentaje de contribución la tendencia 4MPB3N>4CPB3N>4NPB3N donde la forma de las huellas es similar para 4CPB3N y 4NPB3N, con diferencias en sus distancias d_e y d_i debido a la intensidad de estas interacciones en cada sistema. Para 4MPB3N en las interacciones H...H se observa un pico central más angosto y con tendencia a dividirse, esto se debe a que los hidrógenos del grupo metoxi no son equivalentes⁸⁴, ya que uno de ellos participa en la interacción C14-H14B...O1. Para las interacciones C...H en este sistema se observa una forma de “alas”, lo cual es característico de las interacciones C-H... π ⁸³, donde los hidrógenos C-H en superficies vecinas están interactuando con la nube π del anillo al interior de la superficie.

Las interacciones C...O tiene la misma forma para los tres sistemas, siendo la tendencia de su porcentaje de contribución 4CPB3N>4MPB3N>4NPB3N, donde las mayores distancias d_e y d_i corresponde a 4NPB3N pues estas interacciones se presentan en las regiones laterales de la superficie (fig. 12C) y no sobre la parte frontal de las mismas como en los otros dos sistemas.

Las interacciones C...C son significativamente mayores para 4NPB3N, donde se observa una zona de color cian cerca de 1.8Å que es característica de las interacciones π - π que también pueden observarse en la superficie Shape Index con el patrón de triángulos complementarios (fig.14C).

6.5. Análisis de frecuencias vibracionales

Las frecuencias vibracionales calculadas a partir de Gaussian 09 fueron corregidas multiplicando por un factor de escala uniforme de 0.9726⁸⁵ (para altas y bajas frecuencias) para tener una mejor concordancia con los datos obtenidos de manera experimental. Estos valores fueron registrados en la tabla 5.

Tabla 5. Tabla de frecuencias vibracionales experimentales y teóricas.

4CPB3N				4MPB3N				4NPB3N			
EXP	DFT	Scaled	Assignment (δ° PED)	EXP	DFT	Scaled	Assignment (δ° PED)	EXP	DFT	Scaled	Assignment (δ° PED)
3456.09	3773.07	3669.69	ν_{OH} (carbonil) (100)	3294.42	3647.55	3547.61	ν_{NH} (amida) (100)	3309.49	3618.83	3519.72	ν_{NH} (amida) (100)
3308.80	3610.33	3520.16	ν_{NH} (amida) (100)	3093.82	3772.43	3095.32	ν_{CH} (A.aril) (96)	3091.59	3218.60	3110.89	ν_{CH} (A.aril) (100)
2922.79	3228.78	3140.31	ν_{CH} (A.aril) (100)	3093.82	3256.38	3069.80	ν_{CH} (metoxil) (91)	3091.59	3163.37	3076.69	ν_{CH} (A.aril) (99)
2922.79	3252.42	3068.96	ν_{CH} (A.aril) (97)	3093.82	3055.71	3001.16	ν as CH (metoxil) (100)	1651.07	1718.10	1700.29	ν_{CO} (carbonil) (82)
1676.47	1780.64	1721.85	ν CO (carbonil) (82)	3093.82	3025.99	2942.20	ν s CH (metoxil) (91)	1614.42	1656.92	1611.52	ν_{CC} (A.aril) (52)
1661.74	1743.84	1696.06	ν_{CO} (carbonil) (80)	1647.21	1728.99	1681.62	ν_{CO} (carbonil) (83)	1597.06	1646.92	1601.79	ν_{CC} (A.aril) (56)
1600.02	1647.96	1602.81	ν_{CC} (A.aril) (57)	1644.42	1655.06	1609.71	ν_{CC} (A.aril) (49)	1575.84	1637.97	1593.09	ν_{CC} (A.aril) (56)
1600.02	1656.93	1600.65	ν_{CC} (A.aril) (58)	1602.85	1630.07	1595.41	ν_{CC} (A.aril) (54)	1541.12	1593.47	1549.42	ν as NO (nitro) (72)
1584.27	1625.78	1581.23	ν_{CC} (A.aril) (58)	1533.76	1589.48	1545.93	ν as NO (nitro) (77)	1521.84	1583.91	1540.51	ν as NO (nitro) (60)
							ν_{CC} (carbonil-A.aril), ν_{CN} , ν_{CC} (carbonil-A.aril) (12) + ν_{HNC} (amino) (44)				δ_{HNC} (amido-A.aril) (32)
1504.27	1618.96	1574.60	ν_{CC} (A.aril) (47)	1520.26	1553.02	1520.47	ν_{HNC} (amino) (44)	1521.84	1547.46	1505.06	
1524.52	1591.71	1548.10	ν as NO (nitro) (74)	1472.62	1528.25	1496.10	δ_{HCC} (A.aril) (32)	1483.26	1524.96	1483.18	δ_{HCC} (A.aril) (52)
1439.45	1547.47	1505.07	δ_{HNC} (amido) (29)	1449.83	1502.76	1461.58	δ_{HCH} (metoxil) (44)	1435.04	1433.70	1384.42	
			ν_{CC} (A.aril) (40) + δ_{HCC} (A.aril) (22)	1421.89	1435.72	1396.38	ν_{CC} (A.aril) (29) + δ_{HCC} (A.aril) (17)	1346.31	1373.66	1326.02	ν s NO (nitro) (75)
1348.43	1373.26	1335.63	ν s NO (nitro) (81)	1348.24	1372.62	1335.01	ν s NO (nitro) (85)	1327.03	1367.85	1330.37	ν s NO (nitro) (69)
			δ_{HOC} (carbonil) (31) + ν_{CC} (A.aril) (17) + ν_{NC} (Amino-A.aril) (15)								
1225.14	1261.97	1228.45		1269.16	1272.82	1237.94	ν as OC y CC (metoxil) (56)	1327.03	1356.62	1320.45	ν_{CC} (A.aril) (65)
1208.58	1250.22	1233.22	ν_{CC} (A.aril) (47)	1242.26	1256.45	1222.02	ν_{CC} y ν_{CN} (amido) (33) + ρ_{HNC} (amido) (17)	1282.66	1326.04	1289.71	δ_{HCC} (A.aril) (68)
1266.94	1323.56	1297.99	ρ_{HCC} (A.aril)	1288.15	1297.94	1265.12	ω_{HCOH} (metoxil) (56)	1261.45	1266.93	1232.22	ν_{CC} y ν_{CN} (A.aril) (46)
			ν_{CC} (A.aril), ν_{CN} (amido) (38)	1274.65	1243.40	1222.07	δ_{HCC} (A.aril) (22)	1261.45	1253.77	1227.47	ν_{CC} (A.aril) (49)
1178.72	1252.91	1218.58	δ_{HCC} (A.aril) (19) + δ_{HOC} (carbonil) (18)	1221.00	1231.17	1200.18	ν_{CC} (A.aril) (26)	1095.57	1228.22	1097.30	ν_{CC} (A.aril) (42)
1119.31	1255.94	1233.45					ν_{CC} (A.aril) y ν_{OC} (metoxil-A.aril) (28) + ρ_{CCC} (A.aril) (17)	1089.14	1221.48	1090.75	ν_{CC} y ν_{CN} (A.aril) (57)
931.82	1201.04	1070.87	ν_{CC} (A.aril) ν_{CO} (carbonil) (45)	1074.16	1093.28	1063.22	ν s CO (metoxil) (72)	999.32	1097.85	1067.77	ν_{CC} y ν_{CN} (A.aril) + ν_{CC} (A.aril) (22)
904.68	1096.76	1066.71	δ_{HCC} (A.aril) (12)	1026.13	1058.00	1029.01	ν s CO (metoxil) (72)	950.01	959.89	933.59	ω_{HCCC} (A.aril) (59)
875.82	959.81	933.51	ω_{HCCC} (A.aril) (92)	912.33	921.51	925.44	ν_{HCCC} (A.aril) (77)	950.01	959.89	933.59	δ_{ONO} (nitro-A.aril) (22) + ν_{CC} (A.aril) ν_{CN} (amido) (13)
			δ_{NCO} (amido), δ_{ONO} (nitro) (27) + ν_{CC} (A.aril)	871.82	934.60	908.99	Bending CNC, NCO, CCC (A.aril-amida) (19) + ν_{NC} y ν_{NO} (A.aril y nitro) (26)	908.47	924.25	908.65	ν_{CN} (amido-A.aril) ν_{CC} (A.aril)
855.18	934.29	908.69					ω_{HCCC} (A.aril) (61)	897.47	884.46	860.22	(32) + δ_{ONO} (nitro) (19)
				827.46	833.60	820.76		854.47	875.47	851.48	ω_{HCCC} (A.aril) (72)
								827.82	868.66	844.86	δ_{ONO} (nitro-nitro) (54)

Anillo Acilo: A.aril. Anillo Arilo: A.aril. Grupo Amida: amido. Grupo carbonilo: carbonil. Grupo nitro anillo acilo: Nitro. Grupo nitro anillo arilo: Nitro2.

4CPB3N

Se encontraron bandas experimentales de vibración de tensión para los grupos N-H y el C=O característicos del grupo amido en 3308.80 cm^{-1} y 1661.74 cm^{-1} y de los grupos O-H y C=O del grupo carboxilo en 3456.09 cm^{-1} y 1676.47 cm^{-1} . Para el grupo nitro se asignaron las bandas de vibración de tensión asimétrica en 1524.27 cm^{-1} y la simétrica en 1348.43 cm^{-1} . Para los anillos aromáticos, se encontraron las bandas de vibración de tensión C-H solapadas en 2922.79 cm^{-1} y las de C-C entre $1594\text{--}1610\text{ cm}^{-1}$.

En las frecuencias vibracionales calculadas, el sistema 4CPB3N consiste en 31 átomos y sus 87 modos normales de vibración están distribuidos en 30 tensión +29 flexiones en el plano +28 flexiones fuera del plano.

Las bandas teóricas correspondientes a la vibración de tensión N-H y O-H se encuentran en 3520.16 cm^{-1} y 3669.69 cm^{-1} , a frecuencias mayores (aproximadamente 200 cm^{-1}) que las experimentales. Las bandas teóricas C-O de los grupos carbonilo se hallaron a 1696.06 cm^{-1} y 1731.85 cm^{-1} para la amida y el ácido respectivamente, las cuales están a frecuencias mayores pero con una diferencia menor a 60 cm^{-1} respecto a la experimental. Finalmente para las bandas teóricas del enlace N-O del grupo nitro se tiene 1548.10 cm^{-1} y 1335.63 cm^{-1} para vibraciones asimétricas y simétricas respectivamente, las cuales muestran una buena correlación con los valores experimentales, con diferencias menores de 20 cm^{-1} .

4MPB3N

Se encontraron bandas de vibración de tensión para los grupos N-H y el C=O característicos del grupo amido en 3294.42 cm^{-1} y 1647.21 cm^{-1} , para el grupo metoxi se encontró la vibración de tensión de los enlaces C-H en 3093.82 cm^{-1} y la vibración de tensión asimétrica y simétrica del grupo C-O en 1269.16 cm^{-1} y 1026.13 cm^{-1} respectivamente. Para el grupo nitro se encontró la banda de vibración de tensión asimétrica en 1523.76 cm^{-1} y la simétrica en 1348.24 cm^{-1} . Para los anillos aromáticos, se encontraron las bandas de vibración de tensión C-H en 3093.82 cm^{-1} solapadas con las del grupo metoxi, las de C-C entre $1602\text{ y }1614\text{ cm}^{-1}$.

En las frecuencias vibracionales calculadas, el sistema 4MPB3N consiste en 32 átomos y sus 90 modos normales de vibración están distribuidos en 31 tensión + 30 flexiones en el plano + 29 flexiones fuera del plano.

La banda de vibración de tensión del grupo N-H se encuentra en 3547.61 cm^{-1} a frecuencias mayores (aproximadamente 200 cm^{-1}) que la banda experimental. La banda teórica C=O del grupo carbonilo esta 1681.62 cm^{-1} a mayor frecuencia, aproximadamente 40 cm^{-1} , respecto a la experimental. Las bandas teóricas C-H de grupo metoxi se encuentran entre 2942 y 3069 cm^{-1} mostrando buena correlación con la banda experimental donde encuentran solapadas 3093.82 cm^{-1} . Las bandas teóricas C-O del grupo metoxi 1237.94 cm^{-1} y 1029.01 cm^{-1} , para vibraciones de tensión asimétrica y simétrica respectivamente se encuentran con una buena correlación, sin embargo la asimétrica se encuentra a una menor frecuencia, aproximadamente 30 cm^{-1} por debajo de la experimental. Finalmente para las bandas teóricas del grupo nitro 1545.93 cm^{-1} y 1335.01 cm^{-1} hay concordancia con las bandas experimentales encontradas, con diferencias menores de 20 cm^{-1} .

4NPB3N

Se encontraron bandas de vibración de tensión para los grupos N-H y el C=O característicos del grupo amido en 3319.49 cm^{-1} y 1651.07 cm^{-1} , para los grupos nitro se observaron las bandas de vibración de tensión asimétricas en 1541.12 cm^{-1} y 1521.84 cm^{-1} y las simétricas en 1346.31 cm^{-1} y 1327.03 cm^{-1} para los anillos acilo y arilo respectivamente. Para los anillos aromáticos se asignaron las vibraciones de tensión C-H en 3091.89 cm^{-1} y las vibraciones de tensión C-C entre 1575 y 1614 cm^{-1} .

En las frecuencias vibracionales calculadas, el sistema 4NPB3N consiste en 30 átomos y sus 84 modos normales de vibración están distribuidos en 30 tensión + 29 flexiones en el plano + 28 flexiones fuera del plano.

La banda de vibración de tensión del grupo N-H se encuentra en 3519.72 cm^{-1} a frecuencias mayores (aproximadamente 200 cm^{-1}) que la banda experimental. La banda teórica C=O del grupo carbonilo 1700.29 cm^{-1} esta a mayor frecuencia, aproximadamente 50 cm^{-1} , respecto a la

experimental. Para los grupos nitro en ambos anillos las bandas teóricas de vibración asimétricas 1549.42 y 1540.51 cm^{-1} y simétricas 1330.37 y 1336.02 cm^{-1} muestran una buena correlación con las identificadas experimentalmente, con diferencias menores a 20 cm^{-1} .

Para los tres sistemas se observó que la banda de vibración de tensión N-H se desplazaba a frecuencias mucho mayores en los valores teóricos respecto a los experimentales, esto se debe a que este enlace en el sistema cristalino se encuentra afectado por las fuertes interacciones que realiza (tabla 6), las cuales no se observan en una molécula aislada como lo asumen los cálculos de estructura electrónica de las frecuencias vibracionales.

Lo mismo ocurre, pero con menor contundencia, para la banda de vibración de tensión del grupo carbonilo en los tres sistemas, donde este oxígeno carbonílico actúa como aceptor, formando enlaces de hidrógeno N1-H1...O1 en el caso de 4CPB3N y 4MPB3N, y una interacción C4-H4...O1 en 4NPB3N, las cuales son de gran relevancia para el crecimiento supramolecular (sección 6.3).

Las diferencias observadas se pueden correlacionar a efectos del estado sólido, debido a que en los sistemas cristalinos las moléculas se encuentran vinculadas entre ellas por interacciones intermoleculares, mientras que en los cálculos de estructura electrónica solo se tiene en cuenta una molécula aislada en estado gaseoso.

6.6. Análisis de resultados relevantes del *docking* molecular con proteínas de *Leishmania spp.*

El análisis de *docking* molecular se efectuó contra 58 proteínas provenientes de diferentes especies de *Leishmania*, incluyendo *L. major*, *L. braziliensis*, *L. infantum* y *L. mexicana*. Para cada una de ellas se obtuvieron tres valores de energía de afinidad, correspondiente a cada sistema cristalino de estudio (anexo 2).

De estos resultados se escogieron aquellos con valores de afinidad más negativos expresados en Kcal/mol (kilocalorías por mol) para realizar un estudio descriptivo de las interacciones que presentaron los sistemas de estudio con la proteína.

Tabla 6. Valores de energía de unión más negativos para algunas proteínas de *Leishmania major* calculados por *docking* molecular.

Proteína	Código PDB	Organismo fuente	AutoDock Vina afinidad (KJ/mol) 4CPB3N	AutoDock Vina afinidad (KJ/mol) 4MPB3N	AutoDock Vina afinidad (KJ/mol) 4NPB3N
SAM-dependiente metiltransferasa	1XTP	<i>Leishmania major</i>	-10	-10	-10
Ascorbato peroxidasa	3RIV	<i>Leishmania major</i>	-9.3	-9.3	-9.5
N-miristol-transferasa	2WSA	<i>Leishmania major</i>	-9.3	-9.3	-9.4

La finalidad de estudiar las estructuras proteicas pertenecientes a parásitos, es encontrar el papel de las mismas en los procesos fisiológicos de estos y buscar potenciales inhibidores que afecten estos procesos y causen la muerte del mismo. Para la estructura proteica 1XTP⁸⁶, se encontró el reporte de la estructura sin estudios específicos sobre ella aun. Para 3RIV⁸⁷, los estudios se han centrado en explicar el papel de distintos residuos, entre ellos TRP 208, en el aumento o disminución de su actividad. Finalmente para 2WSA⁸⁸ se encontró que es una de las enzimas mas estudiadas y validada como diana farmacológica para el tratamiento de la tripanosomiasis africana y otras enfermedades de origen parasitario, como la Leishmaniasis; su inhibición causa la muerte *in situ* del parásito, debido a distintos mecanismos de acción, entre ellos la perturbación de la endocitosis.

Las interacciones de cada sistema de estudio con las proteínas ya nombradas, fueron visualizadas en 2D por el programa Lig Plot⁺, el cual utiliza el archivo PDB de la proteína acoplada con el ligando de estudio. Los enlaces de hidrogeno se representan como líneas punteadas de color verde y las interacciones hidrofobicas, en las que no se hará énfasis en esta discusión, se observan como diagramas circulares con líneas externas de color rojo, los cuales rodean el nombre del residuo con el que se realiza dicha interacción.

Tabla 7. Visualización de las interacciones proteína-ligando en 2D y contraposición de los sistemas de estudio en el sitio activo.

	1XTP	3RIV	2WSA
4CPB3			
4MPB3N			
4NPB3N			
Poses 3D sistemas de estudio			

4CPB3N=Azul, 4MPB3N=Lila, 4NPB3N=Verde.

1XTP

En los tres sistemas de estudio se generaron los mismos enlaces de hidrógeno. El primero es SER 148: OG –O3, donde OG actúa como donador y corresponde al grupo OH de este aminoácido, el O3 que actúa como aceptor pertenece al oxígeno del grupo nitro del anillo acilo de los sistemas. Las distancias de enlace siguen esta tendencia 4NPB3N>4MPB3N>4CPB3N.

El segundo enlace es THR 167: OG1-O1, donde OG1 actúa como donador y corresponde al grupo OH de este aminoácido, el O1 que actúa como aceptor corresponde al oxígeno del grupo carbonilo de los sistemas. Las distancias de enlace siguen esta tendencia 4MPB3N=4NPB3N>4CPB3N. De estos enlaces reportados solo el que involucra el residuo THR 167 está presente en el ligando original con el que se co-cristalizó la proteína (anexo 3).

La orientación y ubicación de los tres sistemas es casi idéntica en el sitio activo de la proteína, debido a que los tres están realizando los mismos enlaces de hidrógenos. Esto se ve claramente en la superposición de los mismos, donde se observa además la cercanía de los átomos O3 y O1 con los residuos aceptores.

3RIV

En los tres sistemas de estudios presentan un enlace de hidrógeno que involucra el grupo NH₂ del residuo GLU196 como donador.

Para 4CPB3N el enlace es GLU 196: N-O2, donde O2, que actúa como aceptor, pertenece al grupo nitro del anillo acilo de este sistema; esta molécula presenta además el enlace de hidrógeno LEU 188: O-O5, donde O actúa como aceptor y pertenece al grupo carbonilo del aminoácido, O5 actúa como donador y corresponde al OH del grupo carboxilo del ligando.

Para 4MPB3N el único enlace de hidrogeno es GLU 196: N-O4, donde O4 actúa como aceptor y pertenece al grupo metoxi de este sistema.

Para 4NPB3N el enlace de hidrógeno es GLU 196: N-O4, donde O4 actúa como aceptor y pertenece al grupo nitro ubicado en posición para del anillo arilo.

Las distancias de enlace que involucran el residuo GLU 196 siguen esta tendencia 4MPB3N>4CPB3N>4NPB3N, donde las distancias más cortas involucran a un oxígeno aceptor perteneciente a un grupo nitro.

De estos enlaces reportados solo el que involucra el residuo GLU 196 está presente en el ligando original con el que se co-cristalizó la proteína, quien también realiza este tipo de enlace con un oxígeno de un grupo nitro (anexo 4).

La orientación de los tres sistemas en el sitio activo es distinta, donde los anillos acilos de los sistemas 4MPB3N y 4NPB3N coinciden en orientación, situación que no ocurre con el 4CPB3N donde su ubicación es inversa a la de los otros sistemas.

2WSA

Para esta proteína se observa para los tres sistemas distintos enlaces de hidrógeno. Para 4CP3N se tiene el primer lugar el enlace TRP 15: NE1-O2, donde NE1 actúa como donador y pertenece al NH contenido en el fragmento indol del aminoácido, el O2 que actúa como aceptor pertenece al grupo nitro del anillo acilo del sistema. En segundo lugar se observa el enlace THR 189: OG1-O5, donde OG1 actúa como donador y pertenece al grupo OH del aminoácido, el O5 actúa como aceptor y pertenece al OH del grupo carboxilo del sistema.

Para 4MPB3N se tiene en primer lugar el enlace THR 189: OG1-O4, donde el OG1 actúa como donador y pertenece al grupo OH del aminoácido, O4 actúa como aceptor y pertenece al grupo metoxi del sistema. En segundo lugar se tiene el enlace LEU 169: N-O3, donde N actúa como donador y pertenece al grupo NH₂ del aminoácido, O3 actúa como aceptor y pertenece al grupo nitro del sistema.

Finalmente para 4NPB3N se tiene únicamente el enlace de hidrógeno TRP 15: NE1-O2, donde NE1 actúa como donador y pertenece al grupo NH contenido en el fragmento indol del aminoácido, O2 actúa como aceptor y pertenece al grupo nitro en posición meta del anillo acilo.

El enlace de hidrógeno TRP15: NE1-O2 se observa en los sistemas 4CPB3N y 4NPB3N donde la mayor distancia de enlace la presenta 4NP3N. El enlace de hidrógeno THR 189:OG1-O se

presenta en los sistemas 4CPB3N y 4MPB3N, donde la mayor distancia de enlace es para 4CPB3N. De estos enlaces reportados solo el que involucra el residuo LEU 169 está presente en el ligando original con el que se co-cristalizó la proteína (anexo 5).

Las orientaciones de los tres sistemas es similar en el sitio activo de la proteína, siendo la de 4MPB3N la que difiere un poco al estar rotada respecto a los otros dos, debido a su enlace con la LEU 169.

Al analizar las interacciones presentes entre los sistemas de estudio y las proteínas escogidas y contrastando a su vez estas con las observadas en el ligando original, se podría plantear una siguiente ruta sintética. Primero tratando de establecer ligandos ideales de manera teórica, basándonos en las estructuras ya estudiadas, que puedan presentar un mayor número de enlaces de hidrógeno y mejorar los valores de energía de afinidad. Posteriormente se podría llevar a cabo el diseño de la ruta sintética y la obtención de los mismos, para finalmente realizar pruebas *in vitro* de estos para validar los resultados obtenidos por el análisis de *docking* molecular.

7. CONCLUSIONES

- Se sintetizó el sistema 4CPB3N usando como precursor el benzoato de picrilo correspondiente, lo que demostró la viabilidad de los mismos para este tipo de reacciones de amidación; como productos secundarios se obtuvieron sales formadas por el ión picrato y la amina en exceso, las cuales no fueron caracterizadas.
- No se encontraron diferencias significativas en las distancia de enlace y ángulos de torsión del fragmento central amídico para 4CPB3N, 4MPB3N y 4NPB3N. El primero de ellos cristalizó en el sistema triclinico y los otros dos en el monoclinico, los grupos espaciales fueron $P_{\bar{1}}$, $P_{21/n}$ y $P_{2/c}$ respectivamente, los cuales tienen en común que son centros simétricos.
- Para los tres sistemas de estudio se observó el ángulo dihedral entre los los anillos bencénicos era menor de 10° tendiendo a ubicarse estos sobre un mismo plano y el fragmento central amídico tenía un comportamiento planar definido, sin embargo la presencia del enlace de hidrógeno N1-H1...O1 en los sistemas cristalinos 4CPB3N y 4MPB3N permite la rotación del fragmento central amídico respecto a los anillos bencénicos, impidiendo un comportamiento planar del crecimiento cristalino.
- El crecimiento cristalino de 4NPB3N difiere del de los otros sistemas de estudio al ser planar, esto debido a la ausencia del enlace de hidrógeno N1-H1...O1, comportamiento que le permite a su vez presentar interacciones π - π interplanares entre sus anillos bencénicos, las cuales fueron identificadas por medio de las superficies de Hirshfeld y las huellas dactilares.
- Las frecuencias de las bandas de vibración de tensión del enlace N-H y C=O fueron menores para los espectros experimentales respecto a los calculados debido a la presencia

del enlace de hidrógeno intermolecular N1-H1...O1 en los sistemas 4CPB3N y 4MPB3N, y las interacciones C4-H4...O1 y N1-H1...O5 en 4NPB3N.

- Para los estudios de *docking* molecular el mejor puntaje obtenido para los tres sistemas fue -10 KJ/mol, donde cada sistema presento dos enlaces de hidrógeno con los mismos residuos, SER 148 y THR 167, de la estructura proteica 1XTP, adoptando por lo tanto posiciones similares dentro del centro activo de la misma.

8. PROYECCIONES

- Llevar a cabo la obtención de manera cristalina de las fenilitrobenzamidias con sustituyentes $X=H$, OH , CH_3 y halógenos en la posición para del anillo arilo C11 (fig. 6), con la finalidad de realizar estudios comparativos y analizar a fondo la influencia de la interacción $N-H\cdots O$ en este tipo de sistemas.
- Realizar los cálculos de optimización geométrica para analizar el comportamiento de las distancias de enlace teóricas y correlacionarlo con los datos de frecuencias vibracionales obtenidos.
- Realizar un nuevo análisis de *docking* molecular con ligandos derivados de estas fenilnitrobenzamidias que puedan presentar mejores valores de energía de afinidad, para diseñar una ruta sintética para su obtención y llevarlos a pruebas *in vitro* para comprobar su actividad contra *Leishmania*.
- Publicación de las estructuras y resultados obtenidos en revistas especializadas de cristalografía.


9. REFERENCIAS

- (1) Makino, S. Nakanishi, E. y Tsuji, T. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2003**, 24 (3), 389–392.
- (2) Ho T-I, Chen W-S, Hsu C-W, Tsai Y-M, and F. J.-M. *Heterocycles* **2002**, 57, 1501–1506.
- (3) Zhichkin, P.; Kesicki, E.; Treiberg, J.; Bourdon, L.; Ronsheim, M.; Ooi, H. C.; White, S.; Judkins, A.; Fairfax, D. *Org. Lett.* **2007**, 9, 1415–1418.
- (4) Nuta, Diana Camelia, M. C.; Ghici, C. Ȃ.; Limban, C.; Missir, V.; Iu, L. Ț.; Ciag, M. Ș. *Farmacia* **2013**, 61, 966–974.
- (5) Darmadhikari, D.; Athawale, A.; Deshpande, N. R. *Int. J. Chem. Sci* **2013**, 11 (1), 12–28.
- (6) Caliendo, G. *Eur. J. Med. Chem.* **2001**, 36 (6), 517–530.
- (7) Manley, P. W.; Furet, P.; Bold, G.; Brügggen, J.; Mestan, J.; Meyer, T.; Schnell, C. R.; Wood, J.; Haberey, M.; Huth, A.; Krüger, M.; Menrad, A.; Ottow, E.; Seidelmann, D.; Siemeister, G.; Thierauch, K.-H. *J. Med. Chem.* **2002**, 45 (26), 5687–5693.
- (8) Olsson, a R.; Lindgren, H.; Pero, R. W.; Leanderson, T. *Br. J. Cancer* **2002**, 86, 971–978.
- (9) Capdeville, R.; Buchdunger, E.; Zimmermann, J.; Matter, A. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2002**, 1 (7), 493–502.
- (10) Moreno-Fuquen, R.; Mosquera, F.; Ellena, J.; Tenorio, J. C.; Corrêa, R. S. *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2012**, 68 (11), o3107–o3107.
- (11) Moreno-Fuquen, R.; Mosquera, F.; Ellena, J.; Tenorio, J. C.; De Simone, C. A. *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2013**, 69 (4), o570–o570.
- (12) Moreno-Fuquen, R. *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2013**, 69 (12), o1787–o1787.
- (13) Moreno-Fuquen, R.; Hernandez, G.; Ellena, J.; De Simone, C. A.; Tenorio, J. C. *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2013**, 69 (4), o501–o501.

- (14) Moreno-Fuquen, R.; Hernandez, G.; Kennedy, A. R.; Morrison, C. a. *Acta Crystallogr. Sect. C Cryst. Struct. Commun.* **2013**, *69* (6), 665–670.
- (15) Moreno-Fuquen, R.; Azcárate, A.; Kennedy, A. R. *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2014**, *70* (3), o344–o344.
- (16) Moreno-Fuquen, R.; Azcárate, A.; Kennedy, A. R. *Acta Crystallogr. Sect. E Crystallogr. Commun.* **2015**, *71* (6), o389–o390.
- (17) Moreno-Fuquen, R.; Sánchez, D. F.; Ellena, J. *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2014**, *70* (12), o1252–o1252.
- (18) Sun, Y.; Wang, G.; Guo, W. *Tetrahedron* **2009**, *65* (17), 3480–3485.
- (19) Parra, R. D.; Zeng, H.; Zhu, J.; Zheng, C.; Zeng, X. C.; Gong, B. *Chem. - A Eur. J.* **2001**, *7* (20), 4352–4357.
- (20) Johnston, D. H.; Taylor, C. R. *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2011**, *67* (10), o2735–o2735.
- (21) Bender, M. L. *Chem. Rev.* **1960**, *60* (1), 53–113.
- (22) Kim, B.; Lee, H.-G.; Kang, S.-B.; Sung, G.; Kim, J.-J.; Park, J.; Lee, S.-G.; Yoon, Y.-J. *Synthesis (Stuttg.)* **2012**, *44* (01), 42–50.
- (23) Ibrahim, M. F.; El-Atawy, M. a.; El-Sadany, S. K.; Hamed, E. a. *Int. J. Chem. Kinet.* **2013**, *45* (9), 551–559.
- (24) Frump, J. A. *Chem. Rev.* **1971**, *71*, 483–505.
- (25) Zipp, C. F.; Fernandes, M. a.; Marques, H. M.; Michael, J. P.; Perry, C. B. *Cryst. Growth Des.* **2011**, *11* (5), 1431–1436.
- (26) Zipp, C. F.; Dirr, H. W.; Fernandes, M. a.; Marques, H. M.; Michael, J. P. *Cryst. Growth Des.* **2013**, *13* (8), 3463–3474.

- (27) Cullity, B. D. *Elements of X-ray diffraction*; ADDISON-WESLEY: Massachusetts, United States, 1956.
- (28) Wondratschek, H.; Müller, U. *International Tables for Crystallography*; Wondratschek, H., Müller, U., Eds.; International Union of Crystallography: Chester, England, 2011; Vol. A1.
- (29) Wondratschek, H.; Müller, U. *International tables for crystallography volume A: space-group symmetry*; Wondratschek, H., Müller, U., Eds.; International Union of Crystallography: Chester, England, 2005.
- (30) Crystallography - Cristalografia <http://www.xtal.iqfr.csic.es/Cristalografia/index-en.html>.
- (31) 3.4. La simetría de los cristales (las 14 redes de Bravais) http://www.xtal.iqfr.csic.es/Cristalografia/parte_03_4.html.
- (32) Birkbeck College. Crystallographic Space Group Diagrams and Tables <http://img.chem.ucl.ac.uk/sgp/mainmenu.htm>.
- (33) International, T. H. E.; Crystallography, U. O. F.; Publishers, K. A. *International Tables for Crystallography*; Authier, A., Ed.; International Union of Crystallography: Chester, England, 2013; Vol. D.
- (34) Difracción de Rayos X <http://forum.lawebdefisica.com> (accessed May 20, 2007).
- (35) Ewald, P. In *50 Years of X-ray Diffraction*; Ewald, P., Ed.; International Union of Crystallography: Utrecht, The Netherlands, 1962.
- (36) Spackman, M. a.; Jayatilaka, D. *CrystEngComm* **2009**, *11* (1), 19.
- (37) McKinnon, J. J.; Jayatilaka, D.; Spackman, M. a. *Chem. Commun.* **2007**, No. 37, 3814.
- (38) McKinnon, J. J.; Spackman, M. a.; Mitchell, A. S. *Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Sci.* **2004**, *60* (6), 627–668.
- (39) Koch, W.; Holthausen, M. C. *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*; Wiley-VCH Verlag GmbH: Weinheim, FRG, 2001; Vol. 3.

- (40) Ramachandran, K. I.; Deepa, G.; Namboori, K. *Computational Chemistry and Molecular Modeling*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2008.
- (41) Andricopulo, A.; Guido, R.; Oliva, G. *Curr. Med. Chem.* **2008**, *15* (1), 37–46.
- (42) Guido, R. V. C.; Andricopulo, A. D.; Oliva, G. *Estud. Avançados* **2010**, *24* (70), 81–98.
- (43) Morris, G. M.; Lim-Wilby, M. In *Methods Mol Biol*; 2008; Vol. 443, pp 365–382.
- (44) Taylor, R. D.; Jewsbury, P. J.; Essex, J. W. *J. Comput. Aided. Mol. Des.* **2002**, *16* (3), 151–166.
- (45) Kitchen, D. B.; Decornez, H.; Furr, J. R.; Bajorath, J. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2004**, *3* (11), 935–949.
- (46) Herwaldt, B. L. *Lancet* **1999**, *354* (9185), 1191–1199.
- (47) OMS <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/es/>.
- (48) Ochoa, R.; Andres, F.; Muskus, C. *Rev. Ing. Biomed.* **2011**, *5*, 10–16.
- (49) Moreno-Fuquen, R.; Mosquera, F.; Kennedy, A. R.; Morrison, C. a.; De Almeida Santos, R. H. *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2012**, *68* (12), o3493–o3493.
- (50) Hooft, R. W. W. Delft, The Netherlands 1998.
- (51) Otwinowski, Z.; Minor, W. In *Methods in Enzymology*; Methods in Enzymology; Elsevier, 1997; Vol. 276, pp 307–326.
- (52) Sheldrick, G. M. 1996.
- (53) Suryanarayana, C, and M. G. N. *X-Ray Diffraction: A Practical Approach*; Plenum Press: New York, 1998.
- (54) Sheldrick, G. M. *Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem.* **2014**, *C71*, 3–8.
- (55) Farrugia, L. J. *J. Appl. Crystallogr.* **2012**, *45* (4), 849–854.

- (56) Bruno, I. J.; Cole, J. C.; Edgington, P. R.; Macrae, C. F.; Pearson, J.; Taylor, R. *Acta Crystallogr. Sect. B* **2002**, 389–397.
- (57) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery Jr., J. A.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, ; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J. .
- (58) Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. *Phys. Rev. B* **1988**, 37 (2), 785–789.
- (59) Becke, A. D. *J. Chem. Phys.* **1993**, 98 (7).
- (60) Hariharan, P. C.; Pople, J. A. *Chem. Phys. Lett.* **1972**, 16 (2), 217–219.
- (61) Hohenberg, P.; Kohn, W. *Phys. Rev.* **1964**, 136 (3B), B864–B871.
- (62) Jamróz, M. H. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2013**, 114, 220–230.
- (63) world community grid <https://secure.worldcommunitygrid.org/research/dsfl/overview.do> (accessed Apr 10, 2015).
- (64) Berman, H. M. *Nucleic Acids Res.* **2000**, 28 (1), 235–242.
- (65) Sanner, M. F. *J. Mol. Graph. Model.* **1999**, 17 (1), 55–84.
- (66) Morris, G.; Huey, R. *J. Comput. Chem.* **2009**, 30 (16), 2785–2791.
- (67) Trott, O.; Olson, A. J. *J. Comput. Chem.* **2010**, 31 (2), 455–461.

- (68) Pettersen, E. F.; Goddard, T. D.; Huang, C. C.; Couch, G. S.; Greenblatt, D. M.; Meng, E. C.; Ferrin, T. E. *J. Comput. Chem.* **2004**, 25 (13), 1605–1612.
- (69) Wallace, A. C.; Laskowski, R. A.; Thornton, J. M. *Protein Eng.* **1995**, 8 (2), 127–134.
- (70) Um, I.-H.; Lee, J.-Y.; Fujio, M.; Tsuno, Y. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, 4 (15), 2979–2985.
- (71) Kirkien-konasiewicz; Maccoll, A. *J. Chem. Soc.* **1964**, 1267–1274.
- (72) Moreno-Fuquen, R.; Melo, V.; Ellena, J. *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2014**, 70 (12), o1261–o1262.
- (73) Wiesbrock, F.; Schmidbaur, H. *J. Inorg. Biochem.* **2004**, 98 (3), 473–484.
- (74) Glidewell, C.; Low, J. N.; Skakle, J. M. S.; Wardell, J. L. *Acta Crystallogr. Sect. C Cryst. Struct. Commun.* **2004**, 60 (2), o120–o124.
- (75) Etter, M. C. *Acc. Chem. Res.* **1990**, 23 (4), 120–126.
- (76) Saeed, A.; Simpson, J. *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2010**, 66 (11), o2963–o2964.
- (77) Saeed, A.; Khera, R. A.; Arfan, M.; Simpson, J.; Stanley, R. G. *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2009**, 65 (4), o802–o803.
- (78) Du Plessis, M.; Modro, T.; Nassimbeni, L. *J. Crystallogr. Spectroscopic Res.* **1983**, 13, 179–189.
- (79) Ren, Y.; Zuo, Y.; Xiang, Y.; Zhu, R. *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2010**, 66 (12), o3158–o3158.
- (80) Saeed, A.; Hussain, S.; Flörke, U. *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2008**, 64 (4), o705–o705.
- (81) Martinez, C. R.; Iverson, B. L. *Chemical Science*. 2012, p 2191.
- (82) Hill, C. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, 736–741.

- (83) McKinnon, J. J.; Spackman, M. a.; Mitchell, A. S. *Novel tools for visualizing and exploring intermolecular interactions in molecular crystals*; 2004; Vol. 60.
- (84) Spackman, M. a; McKinnon, J. J. *CrystEngComm* **2002**, 4 (66), 378–392.
- (85) Halls, M. D.; Velkovski, J.; Schlegel, H. B. *Theor. Chem. Acc.* **2001**, 105 (6), 413–421.
- (86) Robien, M. A.; Hol, W. G. J. *Struct. Genomics Pathog. Protozoa Consort.*
- (87) Jasion, V. S.; Polanco, J. a.; Mehareenna, Y. T.; Li, H.; Poulos, T. L. *J. Biol. Chem.* **2011**, 286 (28), 24608–24615.
- (88) Frearson, J. a; Brand, S.; McElroy, S. P.; Cleghorn, L. a T.; Smid, O.; Stojanovski, L.; Price, H. P.; Guther, M. L. S.; Torrie, L. S.; Robinson, D. a; Hallyburton, I.; Mpamhanga, C. P.; Brannigan, J. a; Wilkinson, A. J.; Hodgkinson, M.; Hui, R.; Qiu, W.; Raimi, O. G.; van Aalten, D. M. F.; Brenk, R.; Gilbert, I. H.; Read, K. D.; Fairlamb, A. H.; Ferguson, M. a J.; Smith, D. F.; Wyatt, P. G. *Nature* **2010**, 464 (7289), 728–732.

10. ANEXOS

Anexo 1. Funciones que definen las superficies de Hirshfeld.

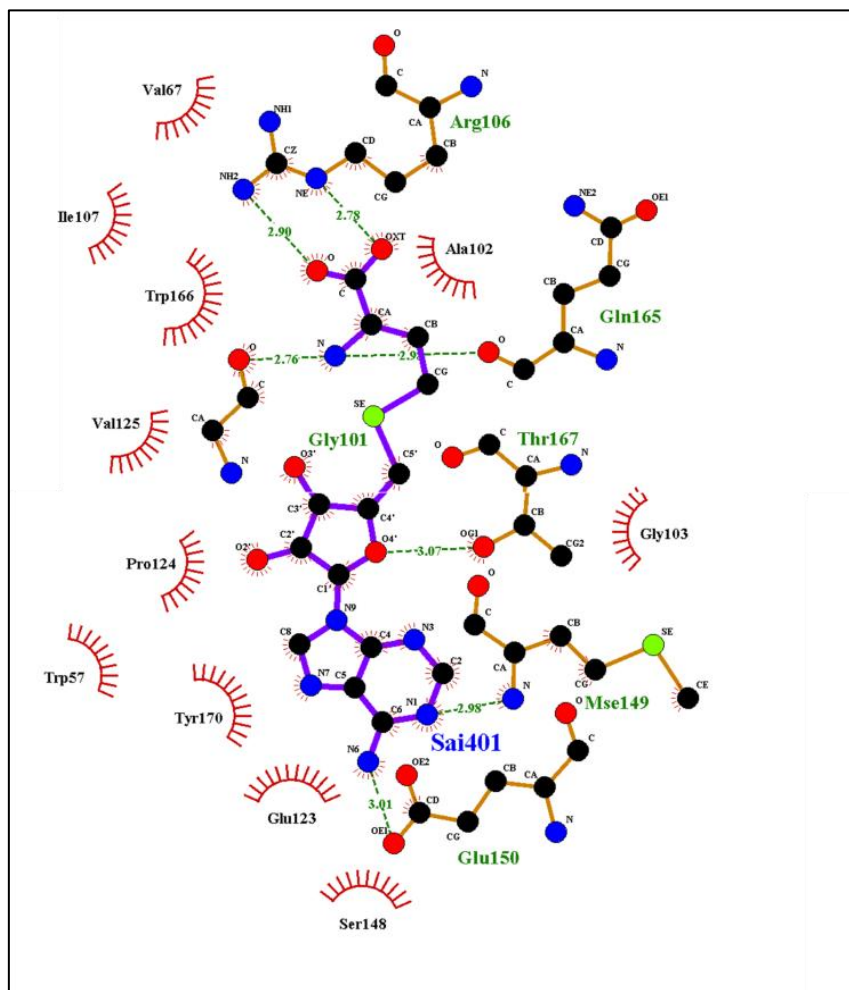
Nombres	Funciones
Curvaturas locales	$k_1 = \frac{-1}{ n } \frac{\delta^2 \omega}{\delta u^2} \text{ y } k_2 = \frac{-1}{ n } \frac{\delta^2 \omega}{\delta v^2}$ <ul style="list-style-type: none"> • $n = \nabla \omega$, gradiente que define el vector normal a la superficie. • u y v, direcciones principales que diagonalizan el hessiano ω restringido para vectores perpendiculares a n.
Superficie Curvedness	$C = \left(\frac{2}{\pi}\right) \text{Ln} \left[\frac{(k_1^2 + k_2^2)}{2} \right]^{1/2}$
Superficie Shape Index	$S = \left(\frac{2}{\pi}\right) \arctan \left[\frac{(k_1 + k_2)}{(k_1 - k_2)} \right]$
Superficie d_{norm}	$d_{\text{norm}} = \frac{d_i - r_i^{\text{vdW}}}{r_i^{\text{vdW}}} + \frac{d_e - r_e^{\text{vdW}}}{r_e^{\text{vdW}}}$

Anexo 2. Valores de energía de afinidad para 58 proteínas de *Leishmania* con cada sistema cristalino.

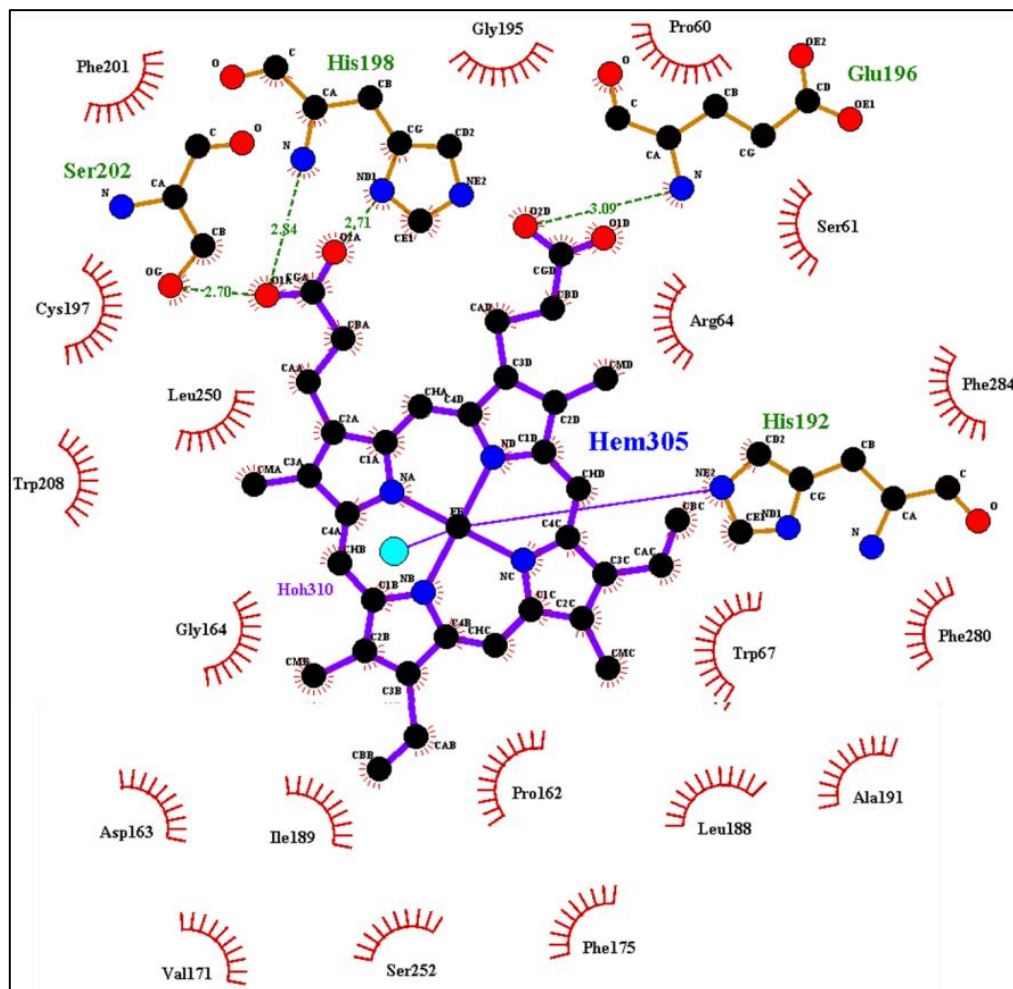
Código PDB de Proteínas	4NPBz3N	4COOHPBz3N	4OCH3PBz3N
1X6O	-5,2	-5,3	-5
3CH7	-7,3	-7,3	-6,7
3L4D	-9	-9	-8,7
2P18	-6,8	-7,1	-6,8
1EVY	-7,5	-7,3	-7,3
1Q50	-6,1	-6,2	-5,9
3IGZ	-6	-5,9	-5,4
2I54	-7	-6,6	-7
1R9J	-8,7	-8,8	-8,2
3PP7	-7	-7,1	-6,2
2X77	-7,2	-7,3	-6,8
2J63	-5,9	-6,3	-5,7
1Y1X	-6,5	-6,4	-6,3
3DWR	-9	-8,7	-8,4
2HQP	-5,5	-5,5	-5,5
3MJY	-9	-8,9	-8,6
2YAY	-7,8	-7,8	-7,5
3E3P	-7,5	-7,4	-7
2C21	-7,8	-7,8	-7,8
3Q5K	-7,6	-7,7	-7,6
1LML	-7,1	-7,1	-6,8
1Z2Q	-6	-6,1	-5,7
1XN4	-5,5	-5,5	-5,4
3KFL	-8,3	-8,9	-8,6
2HFU	-8,5	-8,7	-8
3FWU	-2,8	-2,8	-2,9
2WSA	-9,4	-9,3	-9,3
1EZR	-7,5	-7,6	-6,9
2XE4	-8,6	-8,7	-8,3

2R8Q	-9,4	-9,2	-8,6
1XTP	-10	-10	-10
1SVV	-6,9	-5,9	-5,5
1TC5	-3	-3,1	-2,8
2VPS	-5,8	-5,8	-5,8
1YF9	-5,6	-5,5	-5,3
2OEF	-6,6	-6,7	-6,3
3OH1	-7,7	-7,3	-7,1
1E92	-9	-8,6	-8,3
1Y63	-8,3	-8	-7,6
2AR1	-8,9	-9,3	-8,7
2XSE	-6,9	-6,9	-6,8
3NGS	-7,4	-7,7	-7,2
3PG1	-7,3	-7,6	-7,1
3QW3	-7,1	-7,1	-7,1
3QW4	-7,2	-7,2	-6,9
3R2J	-6,3	-6,2	-6,2
3RIV	-9,5	-9,3	-9,3
3S4O	-5,8	-6,5	-5,7
3S9F	-7,5	-7,3	-7,1
3TUE	-5	-5,1	-5,2
4A26	-7	-7,1	-6,6
4AGS	-7,1	-7,5	-6,8
4AIR	-8,8	-8,9	-8,4
4DY9	-8,6	-9	-9
4F40	-7,7	-7,9	-7,8
4H51	-7,9	-7,5	-7,4
4H7P	-7,3	-7	-6,8
4IU0	-6,6	-6,8	-6,2

Anexo 3. Interacciones de ligando Sai 401 (S-Adenosil-L-Homoselenocisteina) con proteína 1XTP.



Anexo 4. Interacciones de ligando Hem 305 (Protoporfirina IX con Fe) con proteína 3RIV.



Anexo 5. Interacciones de ligando Mya 1422 (tetradecanoil-COA) con proteína 2WSA.

